

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CORDENAÇÃO DO CURSO DE FARMÁCIA**

JÚLIO CÉSAR SOUTO QUEIROZ

**BIOMARCADORES RELEVANTES PARA DIAGNÓSTICO PRECOCE
E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES**

JOÃO PESSOA

2013

JÚLIO CÉSAR SOUTO QUEIROZ

**BIOMARCADORES RELEVANTES PARA DIAGNÓSTICO PRECOCE
E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES**

Trabalho apresentado ao Programa de
Graduação em Farmácia para obtenção do
título de Bacharel em Farmácia

Área de concentração: Bioquímica Clínica

Orientador: Prof. Dr. João Vianney Pereira

João Pessoa

2013

Q38b Queiroz, Júlio César Souto.

Biomarcadores relevantes para diagnóstico precoce e prevenção de doenças cardiovasculares / Júlio César Souto Queiroz. - - João Pessoa: [s.n.], 2013.

86f. -

Orientador: João Vianney Pereira.

Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

JÚLIO CÉSAR SOUTO QUEIROZ

**BIOMARCADORES RELEVANTES PARA DIAGNÓSTICO PRECOCE
E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES**

Trabalho apresentado ao Programa de
Graduação em Farmácia para obtenção do
título de Bacharel em Farmácia.

Monografia aprovada em ____/____/____

Prof. Dr. João Vianney Pereira
Orientador – UFPB

Prof. Dr. Adalberto Coelho Costa
Examinador – UFPB

Profª Drª Alba Francinete Caiaffo Costa
Examinadora – UFPB

AGRADECIMENTOS

Ao SENHOR Jesus, o Cristo, o Caminho, a Verdade e a Vida, por ter pago com sangue os meus pecados na cruz. Sendo Autor, Senhor Absoluto e Dominador de toda a vida e de todas as coisas. É o Salvador da alma de todo aquele que Nele crer. Obrigado SENHOR, Tu és o meu Salvador, o meu Rei, o meu Libertador, a minha Rocha, a força da minha salvação, meu alto refúgio e o meu Deus.

À minha família, incluindo meus pais José Maria e Luíza Lima, irmãos Diego Souto e Kamilla Rebeca, genro Jaime Vidal, tios Homero, Lúcia, Regina, Rosa, Roseane, Sueli, Margarete, Adriana, Vanusa, Solange, Gilmar e Luis, primos Rodrigo, Mere, Roberlane, Dema, Rafaela, Vanessa, Leonardo, Fernanda, Michele e avós Júlio Queiroz, Josefa Tomé, Solon Paulino e Guiomar Rosa. A contribuição de cada um atuou de forma fundamental a cada passo da caminhada. Agradeço a Deus pela família maravilhosa que Ele me deu.

Aos colegas de profissão, incluindo estudantes de Farmácia, Enfermagem, Odontologia, Medicina e Nutrição. Cada qual contribuindo de forma peculiar completando um ao outro em direção ao bom objetivo.

A todos os professores das diversas áreas que confluem na Farmácia. Aos que lecionaram disciplinas, aos que orientaram em projetos de monitoria, extensão e pesquisa.

Ao orientador deste trabalho João Vianney e aos examinadores Adalberto Coelho e Alba Caiaffo. Professores esses que lecionam com o conhecimento e com a vida, formando e conquistando mais e mais estudantes a cada nova turma.

A todos que atuaram direta e indiretamente, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

As doenças cardiovasculares são as maiores causadoras de morte no mundo. A aterosclerose é o processo inflamatório crônico dos vasos sanguíneos responsável pela origem do maior número em morbimortalidade das doenças cardiovasculares. Os fatores de risco tradicionais são insuficientes na previsão de grande parte dos eventos cardiovasculares, sendo necessária a melhoria do poder preditivo desses e a descoberta de novos biomarcadores efetivos. Proteína-C reativa, homocisteína, fibrinogênio, dímero-D, lipoproteína(a), fosfolipase A₂ associada a lipoproteínas, apolipoproteína A-I/apolipoproteína B, peptídeos natriuréticos, mieloperoxidase são biomarcadores não tradicionais cujo poder preditivo e aplicação clínica estão em discussão. PCR, homocisteína, Lp(a), Lp-PLA₂ e MPO atuam nos mecanismos fisiopatológicos estimulando o processo aterogênico e trombogênico. A medida do dímero-D representa a formação e degradação da rede de fibrina na dinâmica da coagulação sanguínea. Níveis de apoB e apoA-I representam efetivos parâmetros aterogênico e antiaterogênico nas doenças cardiovasculares. Os peptídeos natriuréticos atuam na fisiologia cardiovascular e renal regulando a pressão arterial sistêmica e a volemia. O poder preditivo desses biomarcadores encontra alicerces epidemiológicos na literatura científica. Expressivo avanço no entendimento dos mecanismos ateroscleróticos ocorreu, porém muito deve ser desvendado no campo da fisiopatologia e epidemiologia no sentido da diminuição dos prejuízos causados pelas doenças cardiovasculares em saúde.

Palavras Chave: Doenças cardiovasculares, biomarcadores, diagnóstico, risco cardiovascular, prevenção.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the major cause of death worldwide. Atherosclerosis is a chronic inflammatory process of the blood vessels responsible for the origin of the largest number in morbidity and mortality from cardiovascular diseases. The traditional risk factors are insufficient in predicting large proportion of cardiovascular events, requiring to improve the predictive power of these and the discovery of new biomarkers effective. C-reactive protein, homocysteine, fibrinogen, D-dimer, lipoprotein(a), lipoprotein associated phospholipase A2, apolipoprotein AI / apolipoprotein B, natriuretic peptides and myeloperoxidase are biomarkers nontraditional whose predictive power and clinical application are under discussion. CRP, homocysteine, Lp (a) Lp-PLA2 and MPO act in pathophysiological mechanisms stimulating the atherogenic and thrombogenic process. The measurement of D-dimer represents the formation and degradation of the fibrin clot in the dynamics of blood coagulation. Levels of apoB and apoA-I represent effective atherogenic and anti-atherogenic parameters of cardiovascular diseases. Natriuretic peptides act in cardiovascular and renal physiology regulating blood pressure and blood volume. The predictive power of these biomarkers is based on the epidemiology of scientific literature. Significant advance in understanding the mechanisms atherosclerotic occurred, but much should be revealed in the field of epidemiology and pathophysiology towards reducing the damage caused by cardiovascular diseases in health care.

Key words: Cardiovascular diseases, biomarkers, diagnosis, cardiovascular risk, prevention.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismos básicos do processo aterosclerótico	16
Figura 2: Mecanismos aterogênicos e trombogênicos induzidos pela proteína-C reativa.	20
Figura 3: Estrutura química da homocisteína	22
Figura 4: Modelo esquemático do metabolismo da homocisteína.....	23
Figura 5: Geração de espécies reativas pela auto-oxidação da homocisteína.....	25
Figura 6: Participação do fibrinogênio em processos fisiopatológicos cardiovasculares	28
Figura 7: Formação do dímero-D	30
Figura 8: Processo de formação do dímero-D em três etapas	31
Figura 9: Formação da Lp(a) no hepatócito	33
Figura 10: Mecanismos aterogênicos e trombogênicos induzidos pela lipoproteína(a) [Lp(a)].....	35
Figura 11: Mecanismos aterogênicos e trombogênicos induzidos pela fosfolipase A ₂ associada a lipoproteínas (LP-PLA ₂).....	37
Figura 12: Transporte sistêmico de colesterol regulado pelas apolipoproteínas (apoB e apoA-I).....	39
Figura 13: Biossíntese e liberação do peptídeo natriurético tipo-B (BNP).....	42
Figura 14: Mecanismo de relaxamento do músculo liso induzido por peptídeo natriurético.....	44
Figura 15: Mecanismos catalíticos e intermediários metabólicos da atividade da mieloperoxidase	47
Figura 16: Mecanismos aterogênicos e trombogênicos induzidos pela mieloperoxidase	49

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGNEox – Ácidos graxos não esterificados oxidados
ANP – Peptídeo atrial natriurético tipo-A
ApoA-I – Apolipoproteína A-I
apoB-100 – Apolipoproteína B-100
AT₁-R – Receptores tipo-1 da angiotensina II
AVC – Acidente vascular cerebral
BNP – Peptídeo natriurético tipo-B
cGMP – Monofosfato cíclico de guanosina
cLDL – Colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade
CMLV – Células musculares lisas vasculares
CNP – Peptídeo natriurético tipo-C
DAC – Doença arterial coronariana
DCV – Doenças cardiovasculares
FGF-2 – Fator de crescimento de fibroblastos-2
GTP – Trisfosfato de guanosina
HDL – Lipoproteína de alta densidade
HHy – Hiperhomocisteinemia
IAP-1 – Inibidor do fator de plasminogênio-1
ICAM-1 – Moléculas de adesão intrecelulares-1
IDL – Lipoproteína de densidade intermediária
IL-6 – Interleucina-6
IL-8 – Interleucina-8
IP₃ – Trisfosfato de inositol
LDL – Lipoproteína de baixa densidade
LDL (-) – Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa
lisoFC – Lisofosfatidilcolina
Lp(a) – Lipoproteína(a)
Lp-PLA₂ – Fosfolipase A₂ associada a lipoproteínas
MCP-1 – Proteína quimiotática de monócitos-1
M-CSF – Fator estimulador de colônia de macrófagos
MMP – Matriz metaloproteinases

MPO - Mieloperoxidase

NO[•] – Óxido nítrico

NOS – Óxido nítrico sintase

NPR-A – Receptor-A de peptídeo natriurético

NPR-B – Receptor-B de peptídeo natriurético

NPR-C – Receptor-C de peptídeo natriurético

NT-proBNP – Fragmento N-terminal do pró-peptídeo natriurético tipo-B

PAF – Fator ativador de plaquetas

PAF-AH – Fator ativador de plaquetas acetilhidrolase

PAI-1 – Inibidor do ativador do plaminogênio-1

PCR – Proteína-C reativa

PCRus – Proteína-C reativa ultra sensível

PDE – Fosfodiesterase ligadora de cGMP

PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas

PKG – Proteína cinase dependente de cGMP

PKGI – Proteína cinase GI

RS – Espécies reativas

SERCA – Cálcio/ATPase do retículo sarcoplasmático

TF – Fator tecidual

tPA – Ativador de plasminogênio tecidual

VCAM-1 – Molécula de adesão de células vasculares-1

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS.....	13
3 METODOLOGIA	14
4 REVISÃO DE LITERATURA	14
4.1 ATEROSCLEROSE E FATORES DE RISCO	14
4.2 PROTEÍNA-C REATIVA.....	17
4.2.1 Mecanismos fisiopatológicos	17
4.3 HOMOCISTEÍNA	22
4.3.1 Mecanismos fisiopatológicos	22
4.4 FIBRINOGENIO	26
4.4.1 Mecanismos fisiopatológicos	26
4.5 DÍMERO-D	29
4.5.1 Mecanismos fisiopatológicos	29
4.6 LIPOPROTEÍNA(A)	32
4.6.1 Mecanismos fisiopatológicos	32
4.7 FOSFOLIPASE A ₂ ASSOCIADA A LIPOPROTEÍNAS.....	36
4.7.1 Mecanismos fisiopatológicos	36
4.8 APOLIPOPROTEÍNA A-I / APOLIPOPROTEÍNA B	38
4.8.1 Mecanismos fisiopatológicos	38
4.9 PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS	40
4.9.1 Mecanismos fisiopatológicos	40
4.11 MIELOPEROXIDASE	45

4.10.1 Mecanismos fisiopatológicos	45
5 DISCUSSÃO	51
5.1 PROTEÍNA-C REATIVA.....	51
5.2 HOMOCISTEÍNA	52
5.3 FIBRINOGENIO	54
5.4 DÍMERO-D	55
5.5 LIPOPROTEÍNA(A)	56
5.6 FOSFOLIPASE A ₂ ASSOCIADA A LIPOPROTEÍNAS.....	58
5.7 APOLIPOPROTEÍNA A-I / APOLIPOPROTEÍNA B	59
5.8 PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS	60
5.9 MIELOPEROXIDASE	62
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
REFERÊNCIAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são classificadas em grupos que incluem uma diversidade de condições fisiopatológicas agudas e crônicas, com variados níveis de gravidade apresentando reversibilidade clínica ou não. Incluso nesses grupos estão as doenças do coração, as doenças vasculares cerebrais e as doenças dos vasos sanguíneos. As DCV são responsáveis por aproximadamente 17,3 milhões de mortes por ano, sendo as maiores causadoras de morte no mundo em comparação aos outros grupos de doenças (MENDIS; PUSKA; NORRVING, 2011).

No Brasil, cerca de 20% de todas as mortes em indivíduos acima de 30 anos são atribuídas a doenças cardiovasculares. O Sistema de Informação em Saúde, do Ministério da Saúde captou 1.136.947 óbitos no Brasil no ano de 2010, dos quais 353.682 mortes (31,1%) ocorreram em indivíduos na faixa etária de 20 a 59 anos. As doenças do sistema circulatório foram responsáveis por 70.821 (20,0%) dos 353.682 sendo as maiores causadoras das mortes seguidas pelas neoplasias com 57.957 (16,4%) em 2010. Apesar de ser a principal causa de morte no Brasil, a mortalidade das DCV vem caindo nas últimas décadas, sendo que a redução da mortalidade foi maior nas regiões Sul e Sudeste e na faixa etária acima de 60 anos (MOTA et al., 2008; MENDIS; PUSKA; NORRVING, 2011).

Nos Estados Unidos, cerca de 83 milhões de pessoas sofrem de doenças cardiovasculares, equivalendo aproximadamente em 1 acometido a cada 3 adultos. Dados revelam que um homem de 40 no território americano possui cerca de 50% de chances de desenvolver uma doença coronariana, e uma mulher de mesma idade apresenta chances de 32%. Em 2008, aproximadamente 812.000 mortes por doenças cardiovasculares ocorreram nos Estados Unidos, das quais 405.000 foram doenças do coração. Os custos médicos associados às DCV constituíram mais de 20% dos custos em saúde no ano de 2008 nesse país, equivalendo a U\$ 812 bilhões. Os custos representam leitos ocupados, hospitalizações, improdutividade e outros (MENSAH; BROWN, 2007).

A aterosclerose é o processo fisiopatológico responsável pelo maior número de mortes e invalidez por doenças na atualidade. Muitos fatores de risco para aterosclerose e outras doenças cardiovasculares apresentam baixo grau de efetividade na previsão de eventos cardiovasculares adversos.

A necessidade em identificar fatores causais adicionais e novos parâmetros para tratamento profilático de doenças cardiovasculares é aparente. Nos últimos anos, grandes estudos demonstram fatores de risco emergentes como marcadores de aterosclerose e preditores de eventos clínicos, como proteína-C reativa, homocisteína, fibrinogênio, dímero-D, lipoproteína(a), fosfolipase A₂ associada a lipoproteínas, apolipoproteína A-I/apolipoproteína B, peptídeos natriuréticos, mieloperoxidase entre outros geralmente apresentando resultados controversos. Na presente revisão serão abordados de modo sucinto, elementos básicos referentes a mecanismos fisiopatológicos, bem como aspectos epidemiológicos de marcadores laboratoriais não clássicos da aterosclerose no contexto das doenças cardiovasculares (GÓMEZ et al., 2009)

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão de literatura acerca da temática do diagnóstico e prevenção de doenças cardiovasculares mediante o uso de biomarcadores não tradicionais. O enfoque de cada marcador será voltado para os seus mecanismos fisiopatológicos e aspectos epidemiológicos em relação às doenças cardiovasculares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Reunir biomarcadores que apresentam relevância do ponto de vista fisiopatológico e epidemiológico no contexto atual das doenças cardiovasculares
- ✓ Compilar dados sobre os mecanismos fisiopatológicos dos biomarcadores: proteína-C reativa, homocisteína, fibrinogênio, dímero-D, lipoproteína(a), fosfolipase-A₂ associada a lipoproteínas, apolipoproteína A-I/apolipoproteína B, peptídeos natriuréticos e mieloperoxidase.

- ✓ Abordar aspectos epidemiológicos que informem o poder preditivo e o espectro de eventos cardiovasculares inerentes a cada biomarcador.

3 METODOLOGIA

O método científico utilizado na presente pesquisa teve como finalidade compilar e esclarecer a temática em discussão, com base nos objetivos propostos. Trata-se de uma pesquisa bibliográfica, a qual foi desenvolvida com base em material previamente elaborado.

Foram selecionados livros e artigos de periódicos científicos, indexados em bases de dados como: Medline/PubMed, Web of Science, Scielo, Scirus, Wiley Online Library e Science Direct, Google acadêmico e Periódicos Capes além de capítulos de livros.

Os descritores utilizados para a busca dos artigos foram: doenças cardiovasculares, biomarcadores, diagnóstico, epidemiologia e prevenção e suas respectivas traduções para o Inglês, *cardiovascular disease, biomarkers, diagnosis, epidemiology and prevention*.

Os esquemas foram elaborados mediante o uso do software Microsoft Office Power Point 2010. As estruturas da homocisteína foram elaboradas através do software ACD/ChemSketch. O software EndNote Web foi utilizado para elaboração e gerenciamento das referências bibliográficas.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 ATEROSCLEROSE E FATORES DE RISCO

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre. As lesões ateroscleróticas são

responsáveis por 95% das coronariopatias, 85% das claudicações intermitentes dos membros inferiores e 75% dos acidentes vasculares cerebrais. Acredita-se que os números de prevalência na população em geral sejam subestimados pelo fato do processo aterosclerótico permanecer subclínico e assintomático por longos períodos. Muito embora a definição dos passos iniciais e dos fatores causais da lesão aterosclerótica esteja em discussão, um delineamento dos principais mecanismos fisiopatológicos aterogênicos pode ser estabelecido. A Figura 1 sumariza alguns mecanismos fisiopatológicos envolvidos no processo aterosclerótico (SPOSITO et al., 2007).

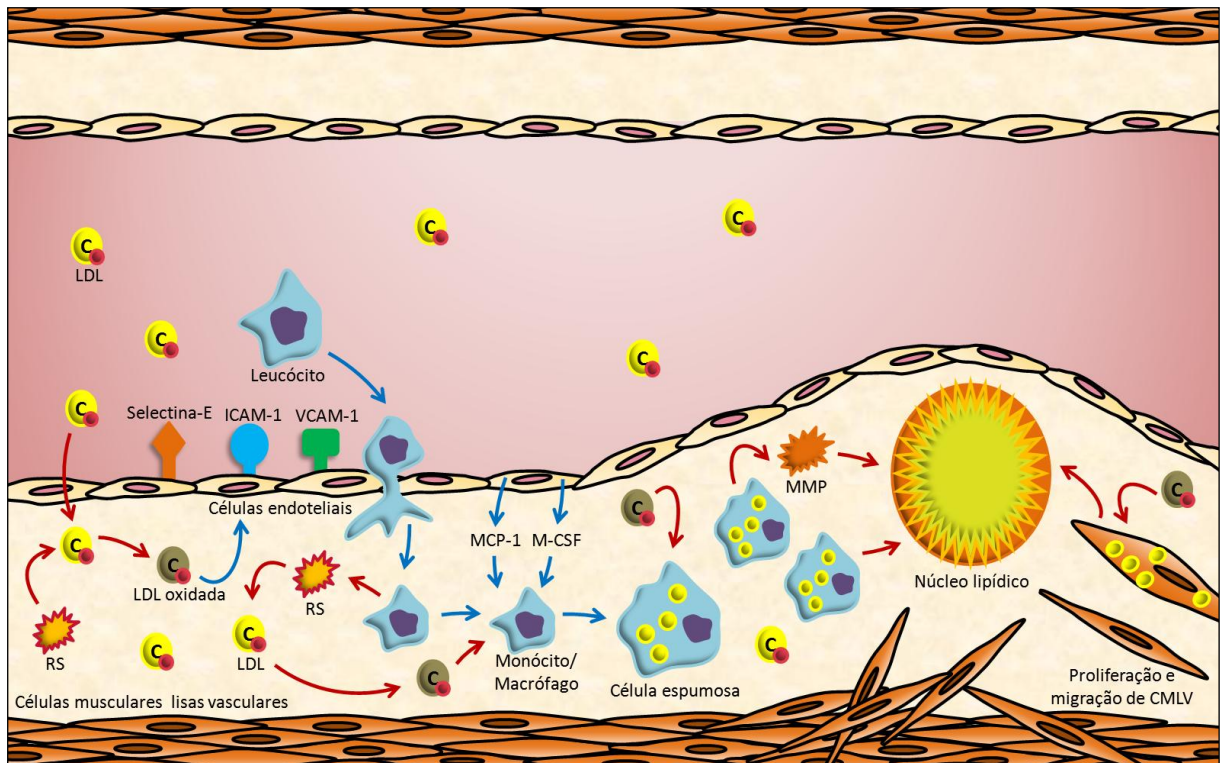
Alguns fatores de risco para a doença aterosclerótica são atualmente bem conhecidos, como idade, sexo, dislipidemias, tabagismo, hipertensão arterial, diabetes mellitus, obesidade, fatores genéticos ou história familiar de doença aterosclerótica. Esses são os fatores de risco tradicionais ou clássicos. Entretanto, tais fatores muitas vezes não são encontrados em pacientes acometidos. Por isso, as recentes pesquisas buscam detectar novos indicadores de risco que possam estar envolvidos na gênese da aterosclerose.

O termo “fator de risco” direcionado a doenças cardiovasculares, principalmente a doença cardíaca coronariana, foi utilizado pela primeira vez em 1961 através de um trabalho publicado com dados do *Framingham Study*. Os fatores de risco são usados para dois propósitos principais: detectar indivíduos e populações sob elevados riscos de eventos cardiovasculares; determinar as causas de DCV. Na prática, fator de risco refere-se a características biológicas modificáveis como lipídeos séricos, pressão sanguínea, glicemia, níveis de insulina e outros, bem como refere-se a características comportamentais ou estilo de vida como hábitos tabágicos, dieta e sedentarismo (MATOS-SOUZA et al., 2013).

O termo fator de risco também tem sido aplicado a características biológicas não modificáveis como sexo, idade e genes relacionados a eventos cardiovasculares. Ao longo das últimas décadas muitos esforços foram direcionados no sentido de construir algoritmos capazes de utilizar as informações dos fatores de risco e estimar com precisão o risco cardiovascular individual e de populações. Os resultados do *Framingham Heart Study* são extensivamente utilizados na estratificação do risco de DCV (MATOS-SOUZA et al., 2013).

O *Framingham Heart Study* é um estudo de coorte iniciado em uma população aparentemente saudável da cidade de Framingham no ano de 1948 com menos de

Figura 1: Mecanismos fisiopatológicos básicos do processo aterosclerótico



As setas azuis esquematizam eventos envolvidos no recrutamento, adesão e migração de leucócitos da corrente sanguínea para a camada íntima do vaso com consequente formação de células espumosas. Produtos metabólicos encontrados nas partículas LDL oxidadas estimulam a produção local de citocinas e produtos metabólicos que induzem a expressão de moléculas de adesão na superfície do endotélio. As moléculas selectina-E, moléculas de adesão intercelulares-1 (ICAM-1) e moléculas de adesão de células vasculares-1 (VCAM-1) apresentam suas expressões positivamente reguladas nesse processo favorecendo a transmigração de leucócitos. Vários tipos celulares, inclusive as células endoteliais, são estimulados a produzir citocinas durante a aterosclerose. A produção aumentada de citocinas quimioatraentes como a proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) direcionam monócitos a sítios ateroscleróticos. Citocinas estimulantes como o fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSF) podem promover o aumento da expressão de receptores scavenger por macrófagos que podem, eventualmente, serem convertidos em células espumosas (ZHANG et al., 2012).

As setas vermelhas indicam processos referentes ao acúmulo e oxidação de partículas LDL na camada íntima, captação das partículas LDL oxidadas por macrófagos e formação da placa aterosclerótica. As partículas LDL atravessam a camada endotelial e acumulam-se na íntima. Espécies reativas (RS) formadas nesse microambiente promovem a modificação oxidativa de alguns componentes lipídicos e proteicos das partículas LDL transformando-as em LDL oxidadas. Estas, por sua vez, podem ser captadas de forma desregulada por macrófagos via receptores scavenger, transformando-os em células espumosas. Estas células liberam citocinas e fatores de crescimento que estimulam a proliferação e migração de células musculares lisas vasculares (CMLV), bem como liberam enzimas matriz metaloproteinases (MMP) que digerem a matriz extracelular. As CMLV podem captar LDL oxidadas e transformarem-se em células espumosas. As células musculares podem produzir uma matriz extracelular que se acumula ao redor do agregado de células espumosas formando uma cápsula fibrosa. As células espumosas no interior dessa placa podem sofrer apoptose, formando o núcleo lipídico ou núcleo necrótico. A placa aterosclerótica pode ser estável ou instável, na dependência, dentre outros fatores, da espessura da cápsula fibrótica (LAWN et al., 1992; MOTT; WERB, 2004).

seis mil participantes. Esse estudo obteve resultados altamente efetivos no tocante a relações causais entre fatores de risco e DCV como doença coronariana, doença

cerebrovascular, claudicações intermitentes e fibrilação atrial. Através dos dados adquiridos nesse estudo, estabeleceu-se o escore de risco de Framingham para doenças cardiovasculares. Através desse escore, é possível estabelecer o risco de desenvolvimento de doença coronariana na próxima década de vida mediante dados como pressão arterial sistólica, colesterol total, colesterol HDL, diagnóstico de diabetes, tabagismo, sexo e idade (DAWBER, 1980).

Os algoritmos atualmente utilizados na identificação e estabelecimento do risco cardiovascular apresentam satisfatórios custos-efetividades na identificação de indivíduos com altos riscos. Entretanto, essa efetividade diminui acentuadamente para os indivíduos de baixo risco que sofrerão eventos cardiovasculares no futuro. Dados epidemiológicos apontam que 50% a 70% dos eventos cardiovasculares ocorrem em populações de baixo risco e que tais indivíduos não tiveram o risco cardiovascular predito pelos algoritmos atualmente utilizados. Ademais, aproximadamente 10% a 20% dos pacientes com doenças cardiovasculares não apresentam fatores de risco identificáveis e cerca de 35% apresentam colesterol total abaixo de 200 mg/dL (JACKSON et al., 2009).

Em virtude dessa realidade, muitos estudos objetivam melhorar o poder preditivo dos fatores de risco tradicionais. Outras linhas de pesquisa buscam descobrir novos biomarcadores cardiovasculares que atuem na predição de eventos cardíacos adversos de forma independente ou que adicionem poder preditivo aos fatores de risco tradicionais. O termo “biomarcadores” significa, atualmente, uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais ou patológicos. Os biomarcadores podem ser medidos nos fluídos biológicos como sangue ou urina, ou através de diagnósticos por imagens (ATKINSON et al., 2001).

4.2 PROTEÍNA-C REATIVA

4.2.1 Mecanismos fisiopatológicos

A Proteína C Reativa (PCR) foi descoberta nos anos 1930 durante estudos em pacientes infectados com *Streptococcus pneumoniae*. Tillet e Francis, em

pesquisa realizada no Laboratório de Oswald Avery, obtiveram soro dos pacientes durante a fase aguda da infecção e isolaram uma proteína que possui a propriedade de precipitar o polissacarídeo-C derivado da parede celular do pneumococo (TILLET; FRANCIS, 1930).

A PCR é uma proteína plasmática pentamérica caracterizada por um arranjo discoide de cinco subunidades de 23 KD aproximadamente circulares ligadas não covalentemente formando um poro central. Pertence à família de proteínas pentraxinas, cuja denominação deriva de duas palavras gregas (penta: cinco) e (ragos: frutos pequenos) originada do aspecto visual da estrutura proteica observada em micrografia eletrônica. Níveis plasmáticos dessa proteína aumentam rapidamente, podendo alcançar valores maiores que 1000 vezes os níveis basais em resposta a reações agudas de infecções, traumatismos, e variados tipos de injúrias teciduais. Muitos estudos epidemiológicos demonstram a correlação entre os níveis plasmáticos e a ocorrência de eventos relacionados às doenças cardiovasculares (SHRIVE et al., 1996; DU CLOS, 2000; RAMADAN et al., 2002; BLACK; KUSHNER; SAMOLS, 2004).

A maior parte da PCR plasmática é proveniente da biossíntese em células hepáticas, contudo, observou-se a expressão em células endoteliais da aorta, células musculares lisas vasculares, rins, células neuronais e tecido de placa arterial. O gene localiza-se no braço curto do cromossomo 1 e contém 2263 nucleotídeos. Após o estímulo agudo, vários agentes desempenham ações reguladoras em nível hepático. A expressão em hepatócitos é regulada principalmente em nível transcripcional (WOO; KORENBERG; WHITEHEAD, 1985; YASOJIMA et al., 2000; CALABRO; WILLERSON; YEH, 2003; JABS et al., 2003; VENUGOPAL; DEVARAJ; JIALAL, 2005; KRUPINSKI et al., 2006).

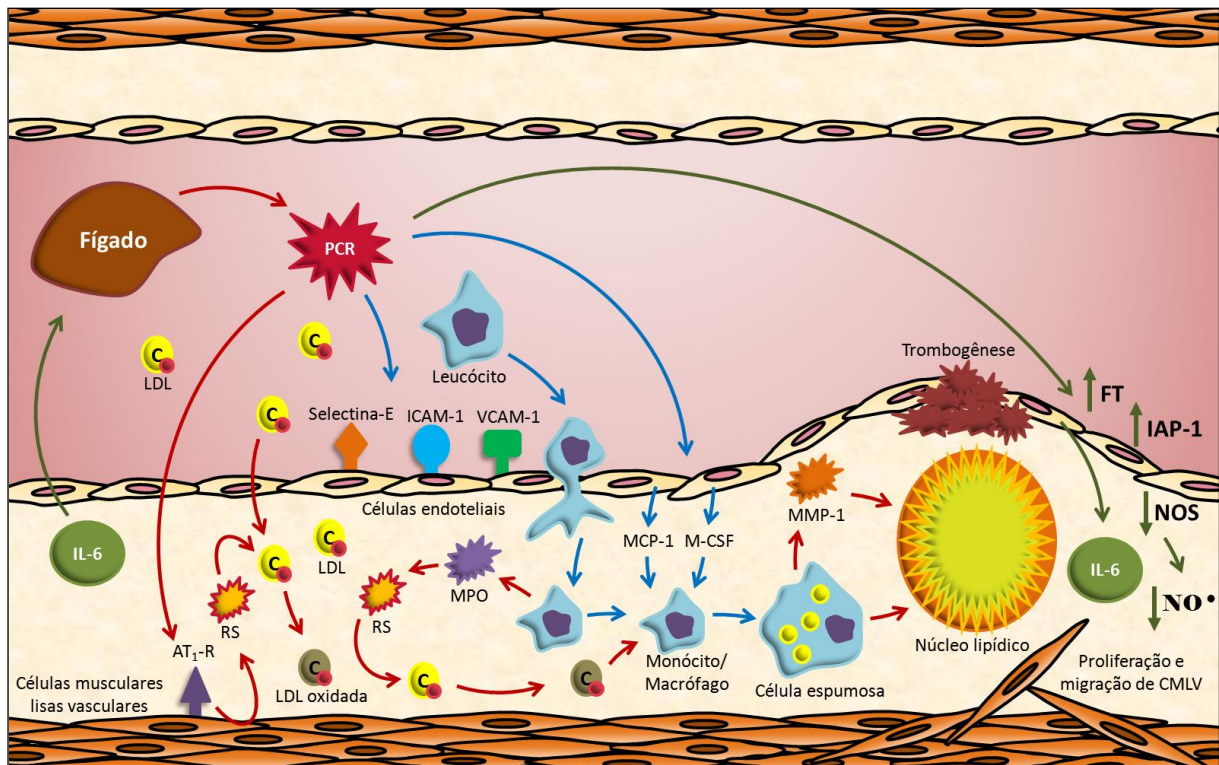
A citocina interleucina-6 (IL-6) é o principal agente indutor conhecido da produção hepática da PCR. A via de sinalização que induz a expressão do gene requer a ligação da IL-6 ao seu receptor de membrana (IL6-R). Inicialmente, a IL-6 liga-se ao seu receptor IL6-R na superfície externa da membrana induzindo a formação de um complexo com a molécula de transdução de sinal gp130. O complexo IL-6R/gp130 fosforila e ativa determinadas proteínas de um grupo de tirosina cinases conhecidas como cinases ativadas-Janus (JAKs). As JAKs, por sua vez, desencadeiam uma complexa cascata de sinalização que culmina na ativação do fator de transcrição STAT3 que então induz a expressão do gene da PCR

(ZHANG et al., 1996; HEINRICH et al., 1998; OCHRIETOR et al., 2000; AGRAWAL et al., 2001).

A principal função biológica da proteína-C reativa é a sua propriedade de reconhecer patógenos e células danificadas do hospedeiro. Uma vez reconhecidos, a proteína estimula a eliminação tanto de patógenos quanto de células hospedeiras através da indução da ativação do sistema complemento e da ativação de fagócitos. Estudos apontam a PCR como participante no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas pela sua capacidade de favorecer e acelerar vários passos da aterogênese. Experimentos que evidenciam sua atuação como potente estímulo para aterogênese, demonstraram tanto a presença dessa proteína em ateromas, quanto alterações inflamatórias em células expostas a PCR exógena. Além disso, a sua produção foi demonstrada por células musculares lisas, células endoteliais e macrófagos das lesões ateroscleróticas (Figura 2) (ZHANG et al., 1999; TORZEWSKI et al., 2000; VOLANAKIS, 2001; ZWAKA; HOMBACH; TORZEWSKI, 2001; VENUGOPAL et al., 2002; BLACK; KUSHNER; SAMOLS, 2004; JIALAL; DEVARAJ; VENUGOPAL, 2004; DESIDERI; FERRI, 2005; VAN TITS et al., 2005).

O potencial pró-inflamatório da PCR, que contribui para o processo aterosclerótico, foi testado em culturas contendo células endoteliais, células musculares lisas, monócitos e macrófagos. Nestes experimentos observou-se a regulação positiva de VCAM-1, ICAM-1, selectina-E, MCP-1, M-CSF e interleucina-6. Além disso, ocorreu adesão de monócitos em células endoteliais vasculares humanas e em células endoteliais da artéria coronariana humana. Desta forma, a PCR é majoritariamente produzida pelos hepatócitos mediante estímulo da IL-6 e lançada na corrente sanguínea. Interage com as células endoteliais vasculares suprarregulando a expressão de VCAM-1, ICAM-1 e selectinas-E pelas células endoteliais, promovendo a transmigração de leucócitos do plasma sanguíneo para o microambiente subendotelial. Neste local, a PCR induz os monócitos e as células endoteliais a produzirem MCP-1, M-CSF e IL-6, que induzem adicional recrutamento e ativação de leucócitos promovendo a manutenção cíclica do processo inflamatório, bem como o crescimento da placa de ateroma. É possível inferir que a PCR atua no desencadeamento, manutenção e aceleração de um mecanismo vascular inflamatório crônico, complexo, cíclico e autossustentável (Figura 2) (PASCERI; WILLERSON; YEH, 2000; LIBBY, 2012).

Figura 2: Mecanismos aterogênicos e trombogênicos induzidos pela proteína-C reativa



As setas azuis indicam a produção da proteína C reativa (PCR) pelo fígado em resposta ao estímulo da interleucina-6 (IL-6) liberada das células endoteliais. Após ser secretada pelo fígado, a PCR é transportada pela corrente sanguínea alcançando as células endoteliais. Neste local, a PCR estimula a expressão da selectina-E, molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1) facilitando a adesão de leucócitos circulantes à camada endotelial e seu posterior transporte à camada subendotelial. A PCR também exerce suprarregulação na expressão da proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e do fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSF) pelas células endoteliais, promovendo adicional atração e ativação de leucócitos circulantes e formação de células espumosas (PASCERI; WILLERSON; YEH, 2000; LIBBY, 2012).

As setas vermelhas indicam a influencia da PCR favorecendo o acúmulo de lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada na camada subendotelial, formação de células espumosas e do núcleo lipídico. As partículas LDL circulantes transmigram para a camada íntima onde são oxidadas por espécies reativas (RS) de diversas origens, entre elas a mieloperoxidase (MPO) dos macrófagos. A PCR também alcança a camada íntima e estimula diretamente os receptores tipo-1 da angiotensina II (AT₁-R) localizados na membrana das células musculares lisas vasculares (CMLV) estimulando-as a produzir espécies reativas. Os macrófagos, através de seus receptores scavenger, captam as LDL oxidadas de uma forma desregulada, transformando-se em células espumosas. Estas células liberam a enzima matriz metaloproteinase-1 (MMP-1) que digere proteínas da matriz favorecendo a formação do núcleo lipídico. Este núcleo possui lipídeos originários de células espumosas apoptóticas, proteínas provenientes de CMLV apoptóticas e outros elementos. As células espumosas também liberam citocinas que estimulam a proliferação e a migração de CMLV que, por sua vez, produzem e liberam colágeno, elastina e elastase formando uma capa proteica ao redor do núcleo lipídico. A espessura e o peso molecular da capa torna o núcleo lipídico estável ou instável, favorecendo a disfunção endotelial e a formação de trombos (MOTT; WERB, 2004).

As setas verdes indicam o estímulo positivo da PCR na agregação plaquetária e formação de coágulos. A PCR promove a expressão do fator tissular (TF), inibidor do fator de plasminogênio-1 (IAP-1), diminuição da expressão e da atividade da óxido nítrico sintase (NOS) e diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico. Esses processos resultam em perda crônica da vasodilação e na regulação positiva do processo trombogênico (NAKAKUKI et al., 2005; SINGH; DEVARAJ; JIALAL, 2005; ERUSALIMSKY; MONCADA, 2007; MA; JI; WU, 2013).

Síndromes cardiovasculares agudas como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral apresentam mecanismos fisiopatológicos estreitamente relacionados com eventos trombóticos. Evidências apontam para uma potencial atividade pró-trombótica. Esta proteína plasmática pode alterar o balanço fibrinolítico exercido pelas células endoteliais na superfície dos vasos promovendo a formação de fibrina. O inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1), que é um importante estimulador trombogênico, tem sua expressão aumentada nas células endoteliais humanas através da suprarregulação da Rho cinase mediante ação da PCR. Em contrapartida, o ativador de plasminogênio tecidual (tPA), que é um regulador negativo da formação de trombos, tem atividade inibida pela proteína. O fator tecidual (TF), uma glicoproteína ligada a membrana que possui papel chave na iniciação da trombose após injúria vascular através da ligação do fator VIIa, é suprarregulado pela PCR em monócitos, CMLV e células endoteliais de maneira dose-dependente através da via NF-kappa B (NAKAKUKI et al., 2005; SINGH; DEVARAJ; JIALAL, 2005).

A PCR regula negativamente a produção e biodisponibilidade de óxido nítrico (NO^{*}). Este composto é sintetizado pela enzima óxido nítrico sintase (NOS) e, uma vez liberado pelas células endoteliais, se difunde para a luz do vaso sanguíneo onde regula a função dos elementos sanguíneos e das plaquetas. Nas plaquetas, o NO^{*} inibe a adesão e agregação promovendo maior fluidez plasmática e prevenindo eventos trombóticos. O NO^{*} produzido pela NOS também se difunde para a camada subendotelial. Ao interagir com proteínas das células musculares lisas vasculares, o NO^{*} promove relaxamento e vasodilatação, bem como inibe remodelação vascular e proliferação celular. A diminuição da produção ou da ação do NO^{*} constitui fator importante na patogênese da doença aterosclerótica através da vasoconstrição, aderência leucocitária, ativação plaquetária, mitogênese, oxidação, trombose, desregulação na coagulação e inflamação vascular. A supressão da expressão e diminuição da bioatividade da NOS das células endoteliais acarreta diminuição na produção de NO^{*}, angiogênese e apoptose (ERUSALIMSKY; MONCADA, 2007; MA; JI; WU, 2013).

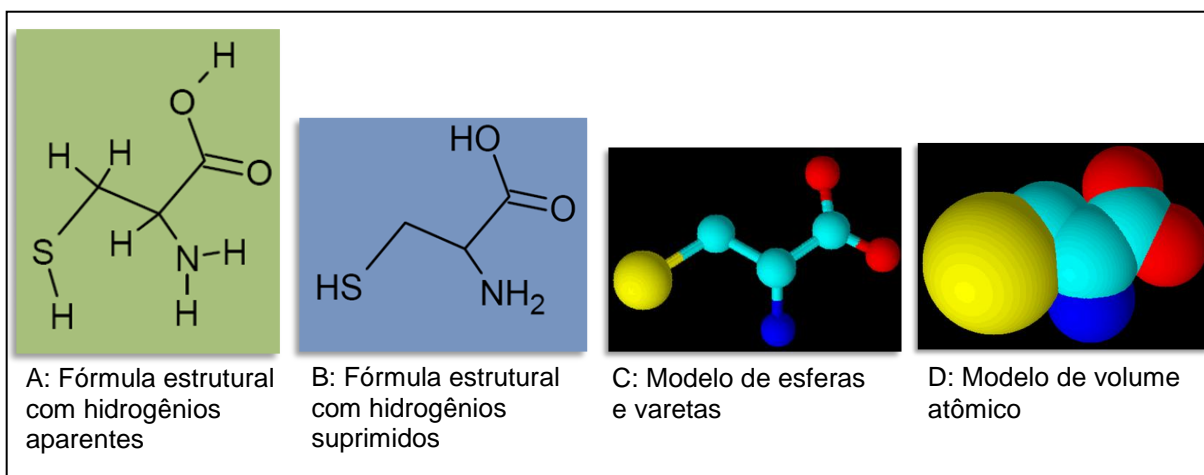
4.3 HOMOCISTEÍNA

4.3.1 Mecanismos fisiopatológicos

A homocisteína foi descoberta em 1932 em estudo conduzido por Vincent Du Vigneaud abordando a atuação bioquímica e nutricional desse metabólito. Posteriormente, em 1969, McCully demonstrou a associação entre a elevação plasmática de homocisteína e eventos ateroscleróticos e tromboembólicos através de estudos com crianças com homocisteinúria. A homocisteína é um aminoácido sulfurado produzido durante o metabolismo intermediário da metionina (Figura 3).

Inicialmente, a metionina da dieta é convertida no intermediário S-adenosilmetionina através de uma reação altamente exergônica catalisada pela metionina adenosil transferase mediante uso da energia química de uma molécula

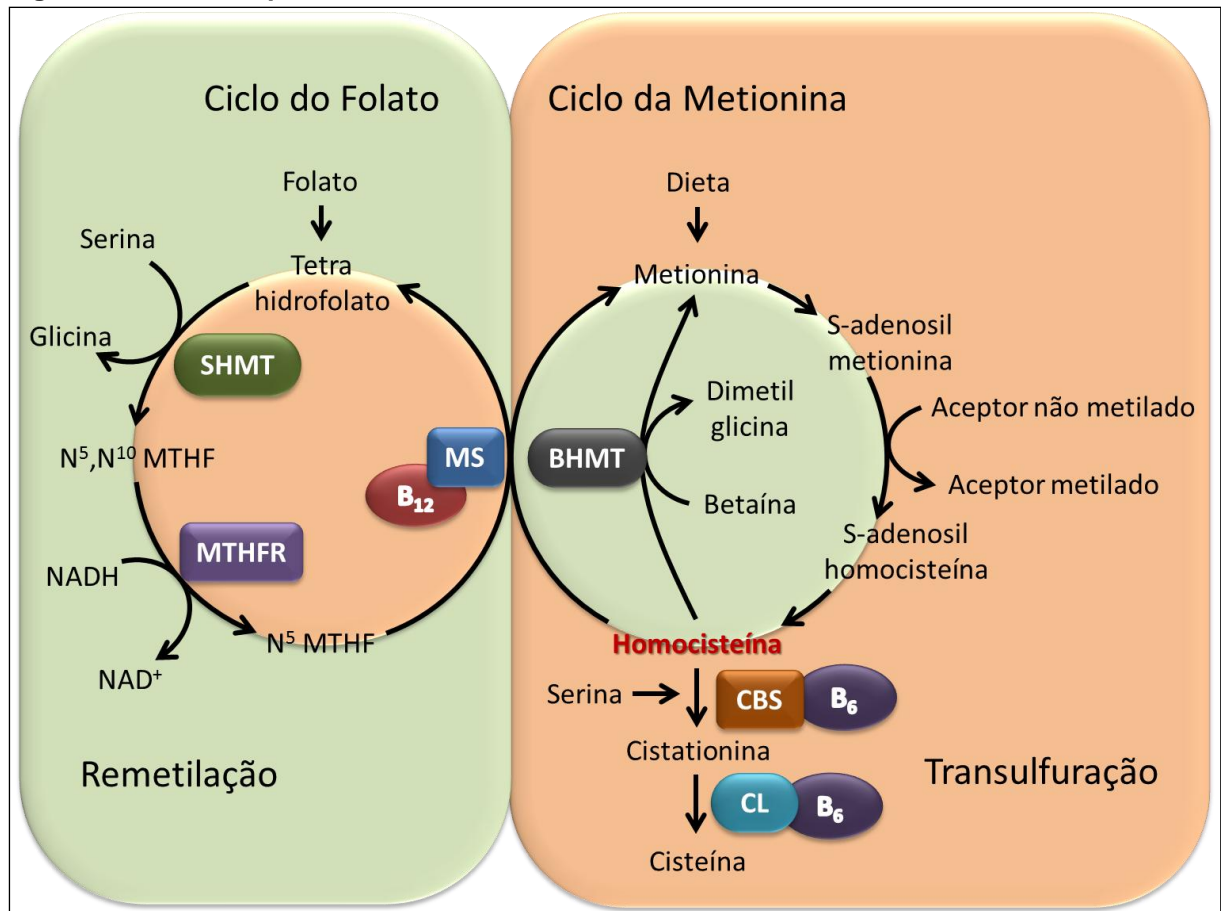
Figura 3: Estrutura química da homocisteína



de trifosfato de adenosina (ATP). S-adenosilmetionina atua como um doador de grupos metila fundamentais para muitas reações de transmetilação do metabolismo intermediário. Desta forma, o grupo metila da S-adenosilmetionina é transferido para um acceptor molecular formando o metabólito S-adenosilhomocisteína com consequente liberação do acceptor metilado. Uma posterior reação de hidrólise cliva S-adenosilhomocisteína liberando o nucleosídeo adenosina e o aminoácido homocisteína (MCCULLY, 1969).

A figura 4 sumariza o metabolismo da homocisteína. A homocisteína formada pode ser metabolizada através do sinergismo entre as vias da transulfuração e da

Figura 4: Modelo esquemático do metabolismo da homocisteína



Enzimas e cofatores envolvidos no metabolismo da homocisteína. SHMT, serina-hidroximetiltransferase; MTHFR, metilenotetra-hidrofolato redutase; MS, metionina sintase; B₁₂, vitamina B₁₂; BHMT, betaína hidroximetil transferase; CBS, cistationina β sintase; CL, cistationina liase (γ-cistationase); B₆, vitamina B₆ (FINKELSTEIN, 1990; STORCH et al., 1990).

remetilação. Na via da transulfuração, a homocisteína é metabolizada a cisteína por meio de duas reações enzimáticas. A enzima cistationina β-sintase catalisa a primeira reação irreversível e dependente de vitamina B₆, onde a homocisteína é combinada com o aminoácido serina para formar cistationina. A cistationina segue para a segunda reação, onde é metabolizada em cisteína e α-cetobutirato mediante catálise exercida pela γ-cistationase (cistationina liase), outra enzima dependente de vitamina B₆. Em um contexto metabólico de excesso de metionina, a exemplo de uma dieta rica em metionina, a via da transulfuração é favorecida pela suprarregulação da cistationina β-sintase e inibição da via da remetilação (FINKELSTEIN, 1990; STORCH et al., 1990).

Nas vias da remetilação, a homocisteína é reciclada em metionina através de duas vias diferentes. A primeira requer a presença da enzima 5-metiltetra-hidrofolato-

homocisteína metiltransferase [metionina sintase (MS)], onde metilcobalamina (B_{12}) e N^5 -metiltetrahidrofolato (N^5 -MTHF) servem como cofator e substrato para esta enzima respectivamente. Esta reação produz o tetrahidrofolato que, juntamente com o aminoácido serina, sofrem ação catalítica da serina-hidroximetiltransferase (SHMT) formando o N^5,N^{10} -metilenotetrahidrofolato (N^5,N^{10} MTHF). O N^5,N^{10} MTHF sofre uma redução pela enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) formando o N^5 -MTHF, reiniciando esse ciclo. Na segunda via da remetilação, que ocorre predominantemente nos hepatócitos, uma grande parte da homocisteína é remetilada pela ação catalítica da betaína-homocisteína metiltransferase (BHMT) utilizando a betaína como doador de grupos metila. As vias da remetilação são favorecidas durante relativa deficiência de metionina promovendo a reciclagem e conservação da homocisteína, que por sua vez, favorece a manutenção dos níveis normais de metionina (Figura 4) (FINKELSTEIN, 1990; STORCH et al., 1990).

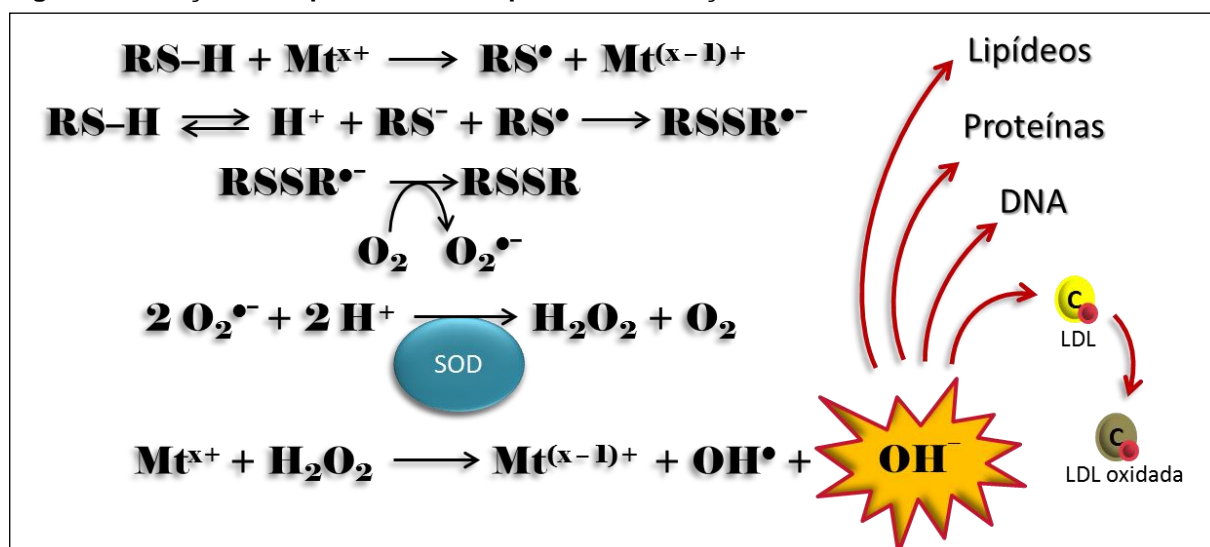
Evidências apontam a hiperhomocisteinemia (HHcy) como fator de risco independente para aterosclerose. Os mecanismos pelos quais a HHcy acelera a aterosclerose envolvem uma série de eventos como: disfunção de células endoteliais, acentuada proliferação e migração de células musculares lisas vasculares, formação de espécies reativas de oxigênio e alteração do padrão de metilação do DNA (AKASAKA et al., 2005; LIU X et al., 2009; KALANI et al., 2013; KRISHNA et al., 2013).

Uma elevada produção de espécies reativas, estimulada pelos altos níveis de homocisteína altera a homeostase redox, estabelecendo um estado de estresse oxidativo em células endoteliais e ativando CMLV através de uma regulação descontrolada na expressão de ciclina-A e resistina, proteína cinase-C ou sinalização via ERK-MAPK. A homocisteína apresenta a propriedade epigenética de inibir processos de metilação de DNA estabelecendo desregulação em alvos intracelulares importantes, favorecendo a gênese de processos ateroscleróticos. O receptor α de estrogênio, fator de crescimento de fibroblastos-2, ciclina-A, proteína α ou γ ativadora de proliferador de peroxissomos apresentam suas atividades diminuídas através da inibição da metilação de DNA estimulada pela homocisteína, o que favorece eventos ateroscleróticos precoces (INGRAM et al., 2004; JAMALUDDIN et al., 2007; SHASTRY et al., 2007; JIANG et al., 2009; KRISHNA et al., 2013).

A fisiopatologia da proliferação das CMLV relaciona-se com a desregulação da produção do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), uma vez que este fator atua como forte mitogênio para essas células. Estudos evidenciam que a hiperhomocisteinemia promove o aumento da resposta das CMLV ao PDGF. A homocisteína suprarregula os níveis de PDGF através da ação na metilação de DNA em células endoteliais estabelecendo uma interligação entre células endoteliais e ativação proliferativa das CMVL. O controle hormonal das CMVL via PDGF atua na fisiologia da circulação sanguínea através da proliferação, migração celular, produção de mediadores inflamatórios, permeabilidade e controle hemodinâmico. Em um contexto fisiopatológico, o PDGF induz processos como aterosclerose, fibrose e angiogênese (ZHANG et al., 2012).

A homocisteína pode apresentar o seu grupo sulfidríla na forma protonada (-SH), segundo o pH do microambiente tissular. Neste estado, a molécula desse aminoácido apresenta-se no estado reduzido. Estudos apontam evidências de que a homocisteína na forma reduzida pode sofrer auto-oxidação na presença de metais de transição e gerar espécies reativas de oxigênio em tecidos vivos (Figura 5).

Figura 5: Geração de espécies reativas pela auto-oxidação da homocisteína



A homocisteína reduzida (RS-H) reage com metais de transição (Mt) gerando intermediários reativos que promovem a formação do ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$). Na presença da enzima superóxido desmutase (SOD), o $\text{O}_2^{\bullet-}$ é convertido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que, por sua vez, reage com metais de transição produzindo o radical hidroxila (OH^{\bullet}). Esta espécie reativa possui um grande poder patológico ao modificar oxidativamente biomoléculas como lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e partículas LDL favorecendo o processo aterosclerótico (LANG et al., 2000).

A sequência de reações envolve moléculas de homocisteína e íons de transição podendo gerar radicais superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$). Este radical sofre ação catalítica

da enzima superóxido desmutase gerando peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Na presença dos metais de transição, H_2O_2 é convertido no radical hidroxila (OH^\cdot), que é uma espécie reativa de oxigênio de grande poder patológico (Figura 4).

O radical hidroxila reage com variados tipos de biomoléculas como carboidratos, lipídeos, ácidos nucleicos e proteínas. A modificação oxidativa de aminoácidos das apolipoproteínas e fosfolipídeos das partículas LDL podem gerar partículas LDL oxidadas e lipoproteína(a) oxidadas, que contribuem para formação de células espumosas. A oxidação e modificação química de proteínas específicas e do material genético de macrófagos, células espumosas e CMLV podem causar apoptose dessas células possibilitando a gênese e progressão do núcleo lipídico e o desenvolvimento de placas ateroscleróticas. Experimentos in vitro que utilizaram culturas de células endoteliais incubadas com homocisteína reduzida demonstraram elevada atividade da superóxido desmutase, evidenciando a alta produção do ânion superóxido nesse contexto metabólico. As células podem reagir ao estresse oxidativo induzido por homocisteína através da regulação positiva de sistemas antioxidantes. A disfunção endotelial causada pela toxicidade oxidativa proporcionada pela homocisteína pode ser um mecanismo que fornece uma explicação plausível para a interligação entre os elevados níveis plasmáticos de homocisteína e doenças cardiovasculares (LANG et al., 2000).

4.4 FIBRINOGENIO

4.4.1 Mecanismos fisiopatológicos

Fibrinogênio é uma glicoproteína plasmática relacionada aos passos finais do processo da coagulação sanguínea. Essa macromolécula apresenta uma estrutura dimérica solúvel com massa molecular de 340 KDa formada por três pares de cadeias polipeptídicas não idênticas ($A\alpha$, $B\beta$ e γ) ligadas entre si por ligações dissulfeto. Após ser sintetizado nos hepatócitos, principal local de produção, o fibrinogênio é liberado na corrente sanguínea onde regula a viscosidade do plasma e induz a agregação reversível das hemácias. Vários estudos epidemiológicos e

observações clínicas demonstram dados que correlacionam os níveis plasmáticos de fibrinogênio e eventos fisiopatológicos cardiovasculares (MEH et al., 2001).

A forma alongada de 45 nm da molécula do fibrinogênio permite sua configuração característica onde os dois domínios D externos se interconectam por meio de um segmento proteico entrelaçado ligado ao domínio E central. Três cadeias polipeptídicas distintas compõem a molécula do fibrinogênio. A cadeia A α possui 610 resíduos de aminoácidos e apresenta a sequência fibrinopeptídica-A N-terminal que é clivada pela trombina para expor um sítio de polimerização chamado E_A e promover a montagem do polímero de fibrina. A cadeia B β contém 461 aminoácidos enquanto a cadeia γ maior possui 411 resíduos (HENSCHEN et al., 1983)

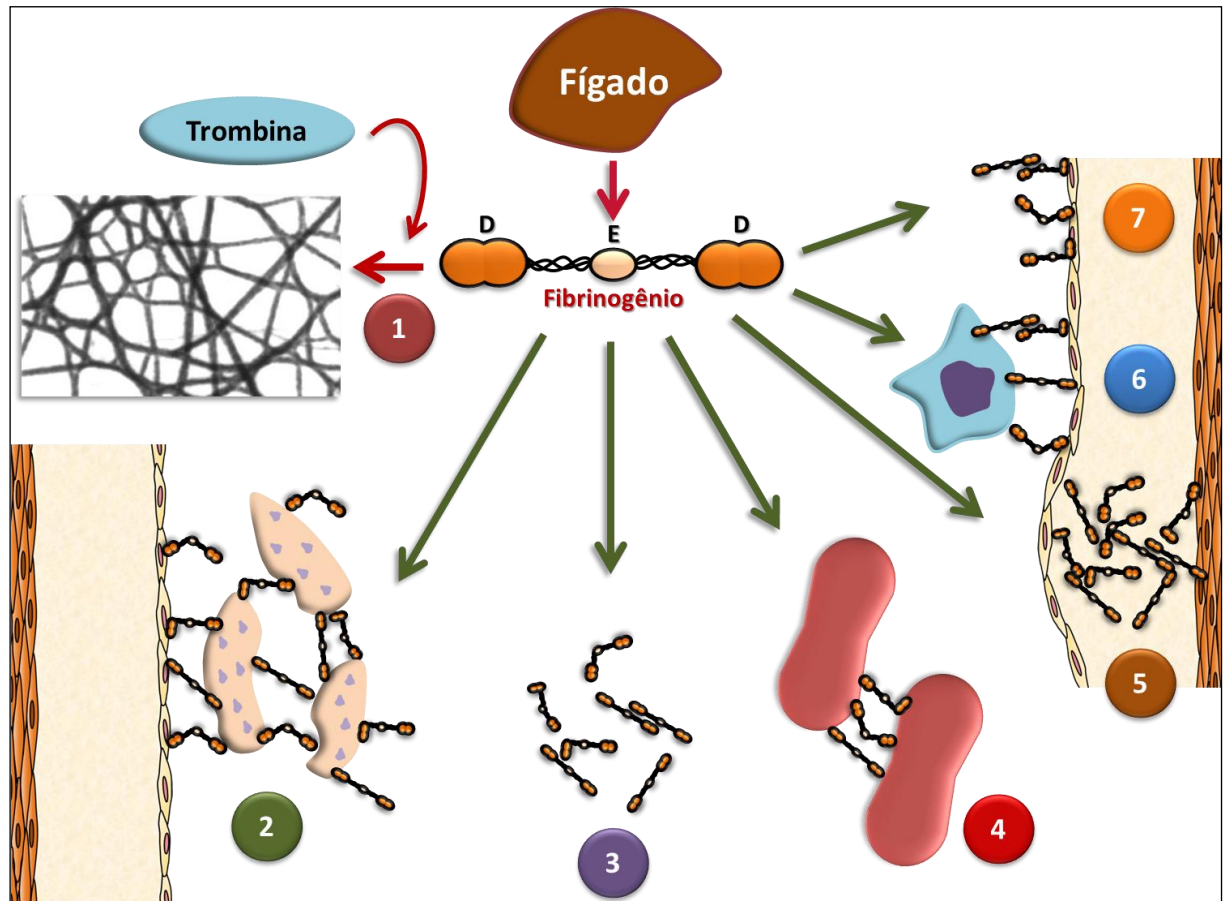
A biossíntese do fibrinogênio ocorre predominantemente no fígado de forma constitutiva ou induzível. Durante a reação de fase aguda, a expressão de fibrinogênio é induzida pela IL-6. Processos inflamatórios crônicos como doença aterosclerótica, lesões pulmonares induzidas pelo fumo e células endoteliais expostas à hiperglicemia podem induzir um aumento crônico de IL-6 e tornar os níveis de fibrinogênio continuamente elevados. Outras proteínas de fase aguda como o amiloide sérico tipo-A, proteína C reativa e haptoglobina também tem seus níveis alterados. Uma elevação de outro reagente de fase aguda em adição ao fibrinogênio posteriormente aumenta a incidência de eventos coronarianos (WILHELMSEN et al., 1984).

Moléculas de fibrinogênio modificadas formam o polímero de fibrina nas etapas finais da cascata da coagulação sanguínea. O último passo comum dos sistemas intrínseco e extrínseco da coagulação envolve a ativação do fator X ao Xa e a subsequente ativação da protrombina em trombina. Trombina promove a clivagem do fibrinogênio em monômeros de fibrina os quais são ligados entre si, com o suporte do fator XIII, para formar um coágulo de fibrina estável (HERRICK et al., 1999).

O fibrinogênio, bem como a fibrina, apresenta afinidade com a superfície endotelial de forma que sua deposição na parede interna do vaso representa contribuição importante para o processo de aterogênese e de crescimento de lesões ateroscleróticas (Figura 6). As moléculas de fibrinogênio dispostas na superfície das células endoteliais interagem com ICAM-1 e suprarregula a expressão dos seus genes estimulando a adesão de leucócitos, monócitos e plaquetas. Adicionalmente,

a interação do fibrinogênio com as células endoteliais estimula a permeabilidade vascular facilitando o cúmulo de partículas LDL e apo(a) na camada subendotelial (WITTE, 1988; LOU et al., 1998; TSAKADZE; ZHAO; D'SOUZA, 2002).

Figura 6: Participação do fibrinogênio em processos fisiopatológicos cardiovasculares



1 – Formação da rede de fibrina induzida pelos altos níveis de fibrinogênio; 2 – agregação plaquetária via interação do fibrinogênio com receptores IIb/IIIa das plaquetas; 3 – aumento da viscosidade sanguínea pelo fibrinogênio que favorece eventos endoteliais adversos e hipertensão arterial sistêmica; 4 – indução de hiperagregabilidade das hemácias pelo fibrinogênio através da interação com receptores membranares; 5 – acúmulo de moléculas do fibrinogênio na camada íntima do vaso induzindo vasoconstrição e aumento da permeabilidade vascular; 6 – o fibrinogênio aderido ao endotélio favorece o recrutamento de leucócitos circulantes e estimula a expressão de ICAM-1; 7 – a interação do fibrinogênio com ICAM-1 na superfície do endotélio permite o seu acúmulo e estimula vias de sinalização que favorecem aterogênese (WITTE, 1988; LOU et al., 1998; FORSYTH et al., 2001; LOMINADZE; DEAN, 2002; TSAKADZE; ZHAO; D'SOUZA, 2002; PATIBANDLA et al., 2009; SEN et al., 2009).

O aumento do conteúdo fibrinogênio na camada subendotelial causa diminuição na expressão de moléculas importantes para impermeabilidade endotelial como proteínas associadas à actina, proteínas da zona de oclusão e da zona de adesão. A ligação do fibrinogênio com a ICAM-1 endotelial promove alterações

fisiológicas nas proteínas juncionais e nas metaloproteinases. A integridade da monocamada endotelial é alterada via ligação do fibrinogênio aos receptores endoteliais ICAM-1 que ativa a via de sinalização da cinase 1/2 ativada por sinal extracelular (ERK-1/2). Através de um mecanismo semelhante, desenvolve-se um processo de vasoconstrição dependente de fibrinogênio. Na vasoconstrição, a via da ERK-1/2 promove a formação e exocitose dos fatores vasoconstrictores endotelina tipo-A, endotelina tipo-B e corpos de Weibel-Palade (PATIBANDLA et al., 2009; SEN et al., 2009).

Foi demonstrada a presença de fibrinogênio, fibrina e produtos da degradação da fibrina em placas ateroscleróticas. Uma vez presente na camada íntima, a fibrina estimula a proliferação e migração de células musculares lisas vasculares, induz a quimioatração de leucócitos e participa da formação do núcleo lipídico na lesão. O fibrinogênio estimula a agregação plaquetária ao se ligar no receptor IIb/IIIa na superfície da plaqueta, o que desencadeia a liberação de difosfato de adenosina dos grânulos plaquetários possibilitando a propagação da agregação e coagulação. O fibrinogênio aumenta a viscosidade sanguínea pela indução da agregação de hemácias. A membrana plasmática dessas células vermelhas possui receptores específicos para a molécula do fibrinogênio que estimula um estado de hiperagregabilidade. A elevação da viscosidade do sangue contribui para a elevação da pressão sanguínea sistêmica que, por sua vez, constitui fator de risco para doenças cardiovasculares. As interações fracas entre as moléculas de fibrinogênio no plasma sanguíneo também exercem um efeito de aumento da viscosidade sanguínea favorecendo a ocorrência de eventos cardiovasculares adversos (FORSYTH et al., 2001; LOMINADZE; DEAN, 2002).

4.5 DÍMERO-D

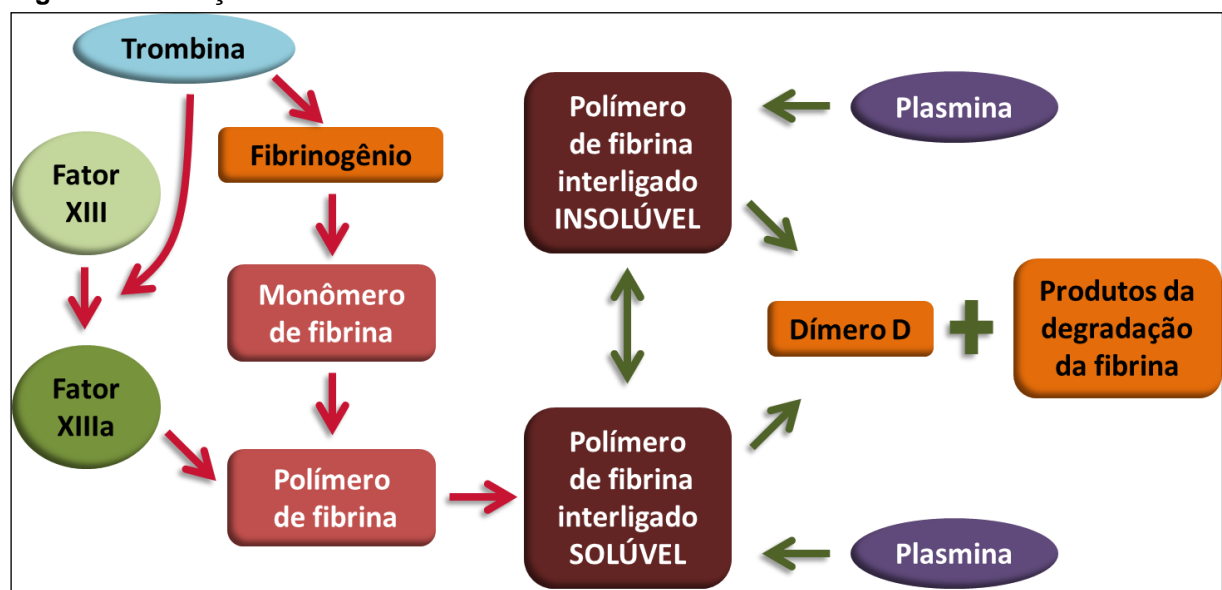
4.5.1 Mecanismos fisiopatológicos

O dímero-D é um dos produtos da degradação da fibrina cujos níveis séricos podem ser detectados por imunoensaios utilizando anticorpos monoclonais. Sua

molécula constitui marcador molecular da ativação hemostática indicando a formação intravascular da fibrina e a posterior degradação do coágulo de fibrina. Níveis aumentados de dímero-D estão associados com várias doenças cardiovasculares e valores acima de 0,5 µg/mL possuem valor preditivo para trombose venosa profunda e tromboembolismo pulmonar. O valor preditivo desse antígeno para eventos trombóticos evidenciam a relação entre a fibrina intravascular e os fenômenos da aterogênese e trombogênese (WADAJKAR et al., 2013).

A formação do dímero-D ocorre através de uma sucessão de eventos proteolíticos sequenciados onde participam a trombina, o fator XIII e a plasmina (Figura 7).

Figura 7: Formação do dímero-D

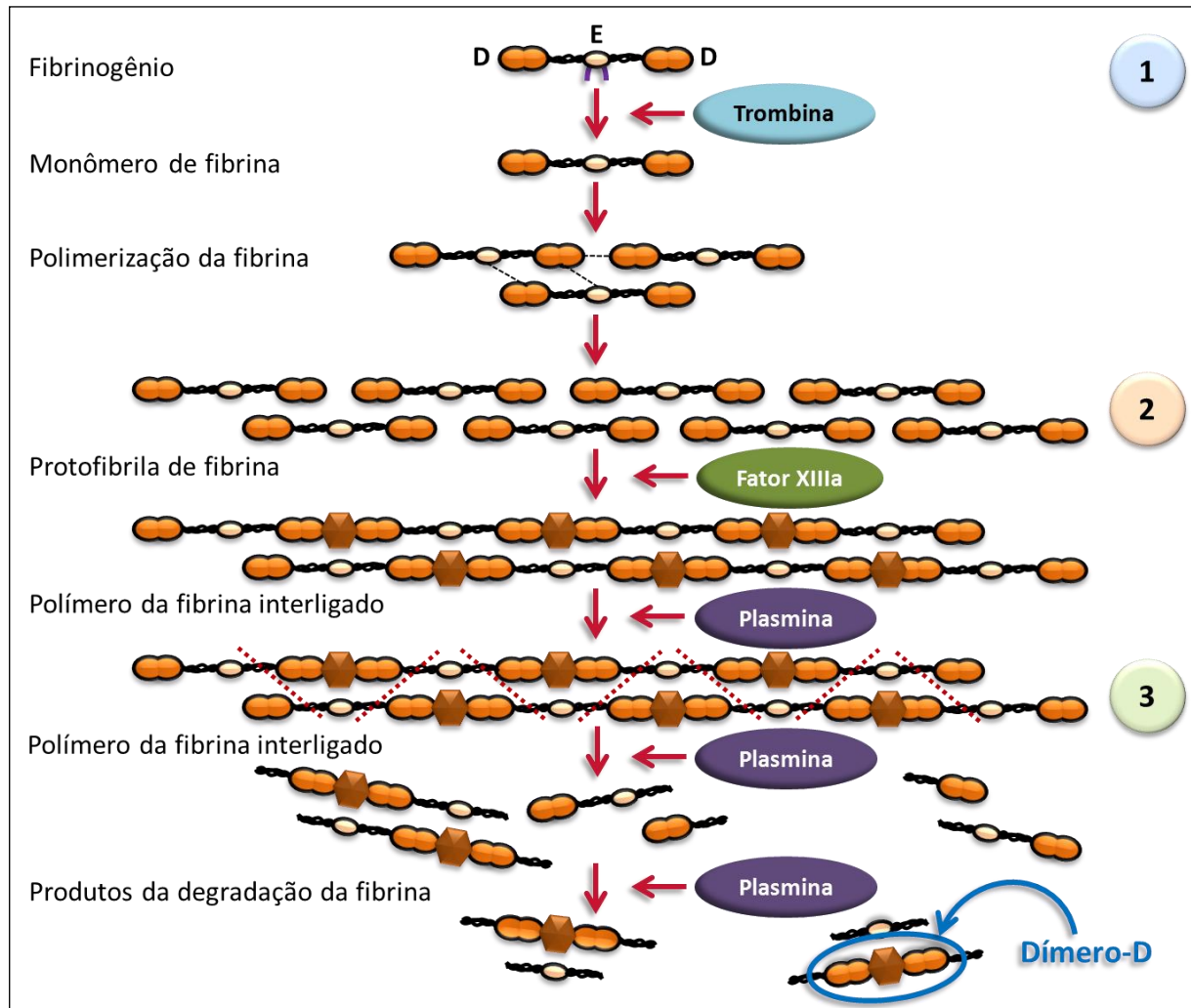


A trombina atua sobre as moléculas de fibrinogênio plasmáticas convertendo-as em monômeros de fibrina e exerce catálise sobre o fator XIII resultando em sua ativação. Uma vez ativo, o fator XIIIa promove a interligação da fibrina formando um polímero inicialmente solúvel, que no seu estado final forma um gel insolúvel. A enzima plasmina exerce a clivagem do polímero liberando os produtos da degradação da fibrina, entre eles o dímero-D. A ação da plasmina ocorre antes e depois da formação do gel de fibrina. Desta forma, a detecção do antígeno dímero-D indica presença dos polímeros solúveis de fibrina antes e depois da formação do coágulo sanguíneo (FOLEY; FERRIS; BRUMMEL-ZIEDINS, 2012; WANG et al., 2012; HAGIWARA et al., 2013).

O processo pode ser dividido em três grandes etapas (Figura 8). Inicialmente a trombina cliva sítios específicos da molécula do fibrinogênio plasmático transformando em monômero de fibrina que se liga a outras moléculas de fibrina formando um polímero. A trombina, que permanece associada às moléculas de

fibrina no polímero, promove a ativação do fator XIII ligado ao fibrinogênio. O fator XIII ativado (XIIIa) é formado antes que o gel de fibrina seja detectado. A segunda

Figura 8: Processo de formação do dímero-D em três etapas



Etapa 1: A trombina ativa a molécula de fibrinogênio transformando-as em fibrina através da clivagem proteolítica das duas sequências fibrinopeptídicas-A N-terminais. Os monômeros de fibrina associam-se por ligações intermoleculares não covalentes entre os domínios D e E.

Etapa 2: O fator XIIIa, ativado pela trombina, promove a formação de ligações covalentes entre os domínios D formando o polímero de fibrina interligado. As ligações covalentes entre os domínios D estão representadas pela estrutura poligonal. O dímero-D apresenta-se estruturalmente formado neste polímero, porém não pode ser detectado por ensaios convencionais na estrutura em gel.

Etapa 3: A plasmina ativa cliva o polímero de fibrina em variados locais liberando os produtos da degradação da fibrina que apresentam distintos pesos moleculares e uma diversidade na complexidade molecular. O antígeno dímero-D encontra-se entre os produtos de degradação, podendo ser detectado neste nível (FOLEY; FERRIS; BRUMMEL-ZIEDINS, 2012; WANG et al., 2012; HAGIWARA et al., 2013).

etapa da formação do dímero-D engloba um conjunto de passos onde o fator XIIIa promove a interligação dos monômeros de fibrina através da formação de ligações

covalentes entre resíduos de lisina e glutamato das fibrilas solúveis de fibrina e do gel de fibrina. Na terceira etapa, o plasminogênio é ativado formando a enzima plasmina na superfície do polímero e promovendo a quebra da fibrina em sítios específicos. Os produtos da degradação desta quebra apresentam os mais variados pesos moleculares. O dímero-D é um dos produtos desse processo proteolítico sequenciado. Apesar do dímero-D ser formado pela ação do fator XIIIa e estar presente no polímero de fibrina, esse antígeno permanece indetectável até a ação proteolítica da plasmina (FOLEY; FERRIS; BRUMMEL-ZIEDINS, 2012; WANG et al., 2012; HAGIWARA et al., 2013).

4.6 LIPOPROTEÍNA(A)

4.6.1 Mecanismos fisiopatológicos

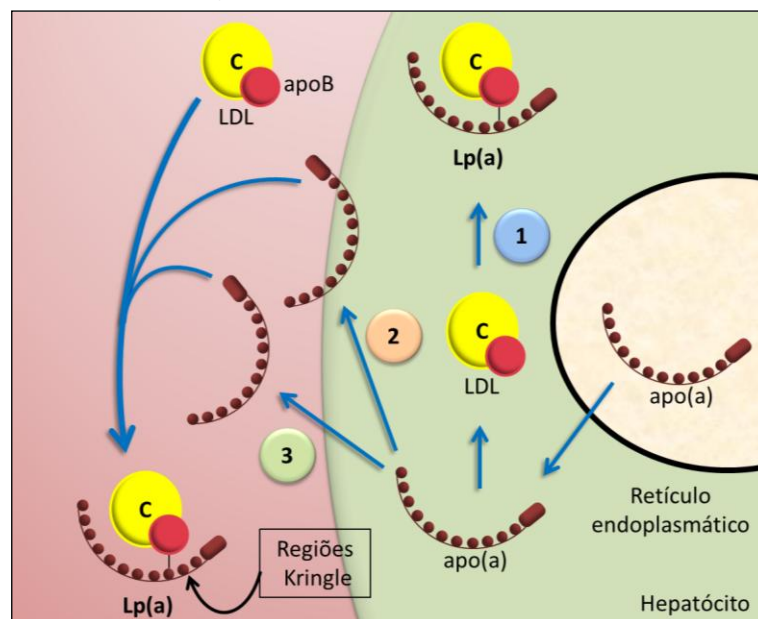
A Lipoproteína(a) [Lp(a)] é uma macromolécula estruturalmente semelhante à LDL formada por uma apolipoproteína B-100 [apo(B-100)] ligada por ponte dissulfeto à apolipoproteína(a) [apo(a)]. A Lp(a) pode ser quantitativamente detectada no plasma sanguíneo com sua correspondente concentração dependente da produção hepática da apo(a). A descoberta da Lp(a) em plasma humano se deu em 1963 quando Kare Berg pesquisava determinantes antigênicos do sangue ao observar que um terço das amostras plasmáticas dos pacientes reagia com um antisoro de coelhos imunizados com LDL humano. Diversos estudos demonstram a associação entre os níveis séricos de Lp(a) e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares como a coronariopatia (BERG, 1963; DUBE et al., 2012).

Codificada por um gene localizado no cromossomo 6, a apo(a) é uma glicoproteína estruturalmente semelhante ao plasminogênio pertencente à família de proteínas que possui a região “kringle”. Nesta família estão contidos o fator VII, o fator estimulador de macrófagos e a protrombina. Assim como o plasminogênio, a apo(a) apresenta múltiplas cópias do domínio kringle 4 em sua estrutura, uma cópia do domínio kringle 5 e um domínio protease inativo. O domínio kringle 5 apresenta diversas isoformas das quais kringle 5-2 possui múltiplas repetições atribuindo uma

larga variação polimórfica para a Lp(a). Entre as diferenças estruturais importantes sobre o plasminogênio, apo(a) possui um resíduo de cisteína que se liga à apo(B) gerando a Lp(a) (MCCORMICK, 2004; LIPPI; TARGHER, 2012).

A síntese e secreção dos componentes da partícula ocorrem predominantemente no fígado, porém, estudos demonstram sua síntese em outros locais como aorta e artérias carótidas. Estudos evidenciam que a montagem da partícula Lp(a) pode ocorrer em três possíveis sítios distintos: no microambiente intracelular, na superfície celular ou no meio extracelular (Figura 9). Após formação da apoproteína(a) e sua liberação no microambiente intracelular, procede-se a formação de uma ponte dissulfeto com a apo(B) da partícula LDL formando a Lp(a). No plasma sanguíneo, seus níveis independem dos níveis das outras lipoproteínas e não são modificados pela tradicional farmacoterapia das dislipidemias (WHITE et al., 1994; FU et al., 2001; FRISCHMANN et al., 2012).

Figura 9: Formação da Lp(a) no hepatócito



Os três possíveis locais de formação da Lp(a) são: 1 – intracelular; 2 – superfície celular; 3 – extracelular. Após formação da apoproteína(a) e sua liberação no microambiente intracelular, procede-se a formação de uma ponte dissulfeto com a apoproteína(B) da partícula LDL formando a Lp(a) (WHITE et al., 1994; FU et al., 2001; MCCORMICK, 2004; FRISCHMANN et al., 2012; LIPPI; TARGHER, 2012).

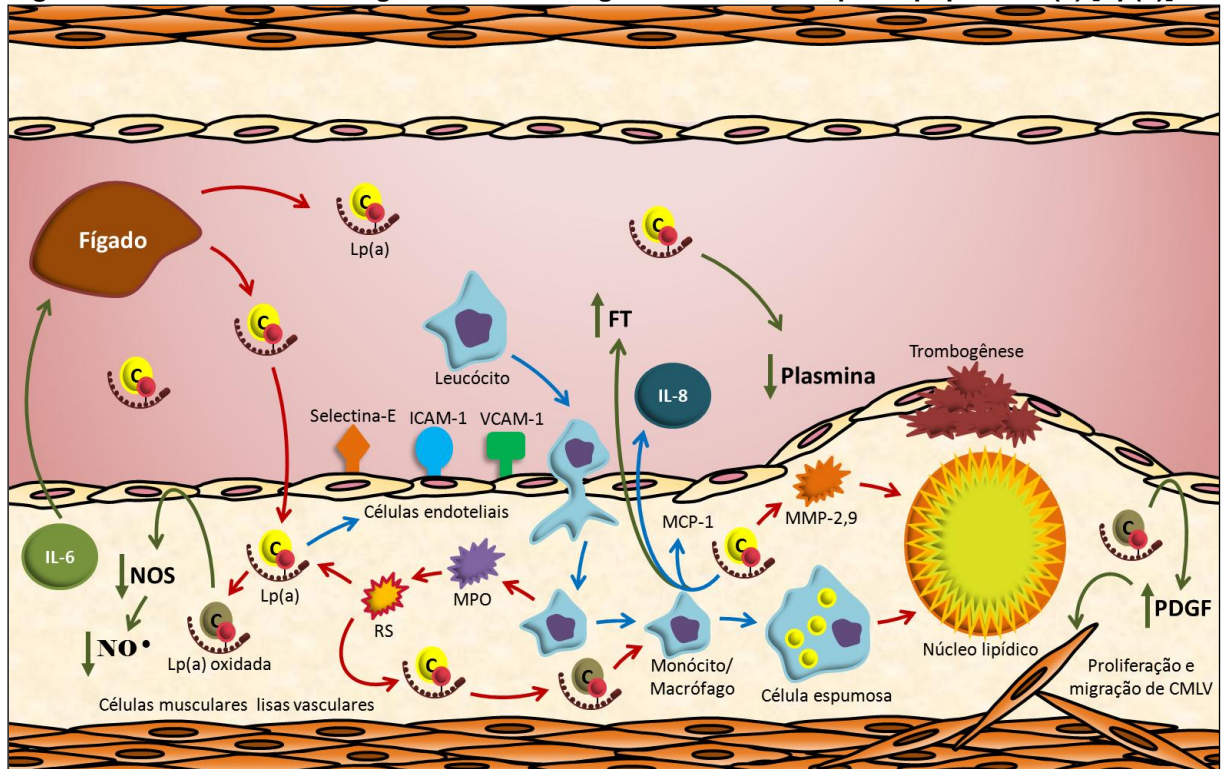
Os papéis fisiológicos da Lp(a) permanecem incertos, porém, existem evidências de atuações na cicatrização tecidual, na resposta imunológica inata, na infecção e na liberação de colesterol para membranas celulares de células em crescimento. Em contrapartida, mecanismos fisiopatológicos em doenças cardiovasculares envolvidos com a Lp(a) são bem conhecidos.

Estudos demonstram o acúmulo de Lp(a) e apo(a) na parede vascular, onde podem sofrer processos de oxidação e captação por macrófagos via receptores scavenger com consequente acúmulo de colesterol e formação de células espumosas levando à aterogênese. O processo de oxidação ocorre mediante formação de espécies reativas de várias origens como mieloperoxidase, homocisteína reduzida, bem como induz a produção de MCP-1 e interleucina-8 (IL-8) por macrófagos. Esses fatores atuam em processos que favorecem a atração, recrutamento e migração de leucócitos, bem como a formação de células espumosas e CMLV ativadas por PCR formando as Lp(a) oxidadas. Fatores de crescimento e citocinas liberados pelos macrófagos e células espumosas na placa aterosclerótica em formação estimulam a proliferação de CMLV e síntese de colágeno. Partículas Lp(a) oxidadas estimulam as células endoteliais a produzirem PDGF, que por sua vez, estimula a proliferação de CMLV. A partícula Lp(a) interage com as integrinas e promove o aumento da expressão das moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1 e selectina-E em células endoteliais (LAWN et al., 1992; HOFF; ONEIL; YASHIRO, 1993; DERIJKE et al., 1995; ZHAO; XU, 2000; LIU L. et al., 2009).

Estudos evidenciam a contribuição da Lp(a) para a formação de trombos através de mecanismos moleculares diversos. A ativação e agregação de plaquetas representam processos potencialmente aterogênicos que são influenciados pela Lp(a) e apo(a). Essas partículas ativam plaquetas via hexapeptídeo ativado por receptor de trombina e estimulam agregação de plaquetas sob a atuação do ácido araquidônico. O fator tecidual (TF) é um componente presente nas fases iniciais da coagulação relacionadas à ativação de trombina. Lp(a) promove expressão de fator tecidual em monócitos pela ativação da integrina $\alpha_M\beta_2$ e consequente ativação da cascata de sinalização do fator kappa B (NF κ B) (Figura 10) (RAND et al., 1998).

O importante fator anticoagulante plasmina tem sua formação diminuída pela Lp(a) através de inibição competitiva. Durante a formação da plasmina, o plasminogênio forma um complexo ternário com o ativador de plasminogênio

Figura 10: Mecanismos aterogênicos e trombogênicos induzidos pela lipoproteína(a) [Lp(a)]



As partículas Lp(a) são expressas e liberadas pelos hepatócitos mediante estímulos da IL-6. Essas partículas alcançam a corrente sanguínea, podendo atravessar a camada endotelial e acumular-se na camada íntima dos vasos onde podem promover efeitos pró-ateroscleróticos.

As setas azuis indicam a ação da Lp(a) na formação de fatores que favorecem o recrutamento, adesão e transmigração de leucócitos para a camada íntima, bem como a formação de células espumosas. A expressão de selectina-E, ICAM-1 e VCAM-1 pelas células endoteliais é suprarregulada pela Lp(a), o que facilita o recrutamento de leucócitos circulantes. A Lp(a) estimula a produção de IL-8 e de MCP-1 pelos os macrófagos, favorecendo a ativação e a quimioatração de monócitos, facilitando posterior formação de células espumosas (LAWN et al., 1992; LIU L et al., 2009).

As setas vermelhas demonstram processos influenciados pela Lp(a) na oxidação, captação por macrófagos e formação do núcleo lipídico. Espécies reativas de origens variadas, inclusive as formadas via mieloperoxidase, modificam a estrutura da Lp(a) tornando-a Lp(a) oxidada. Uma vez oxidadas, as partículas são captadas pelos macrófagos de forma não regulada, possibilitando a formação das células espumosas. As enzimas matriz metaloproteinases 2 e 9 são ativadas pela Lp(a) passando a degradar a matriz extracelular e facilitar a gênese e crescimento do núcleo lipídico (HOFF; ONEIL; YASHIRO, 1993; DERIJKE et al., 1995).

As setas verdes esquematizam interações entre a Lp(a) e o endotélio na promoção da disfunção endotelial, formação de trombos e manutenção do processo inflamatório. Partículas Lp(a) oxidadas na íntima promovem a diminuição da disponibilidade de NO• prejudicando a vasodilatação do vaso sanguíneo. Essas partículas regulam positivamente a produção de PDGF que estimula a proliferação de CMLV e a posterior formação do núcleo lipídico. Adicionalmente, Lp(a) estimula a produção do fator tecidual (TF) pelos monócitos, favorecendo o processo de coagulação e disfunção endotelial. As células endoteliais afetadas pelas ações da Lp(a) liberam IL-6 que estimula adicional produção de Lp(a) pelo fígado atribuindo ao processo geral um caráter cíclico, crônico e autossustentável (RAND et al., 1998; ZHAO; XU, 2000; UEMURA et al., 2001; HANCOCK et al., 2003; LIU L et al., 2009).

tecidual (tPA) e fibrina, liberando a plasmina ativa a partir desse complexo. A Lp(a) e apo(a), através do seu domínio semelhante ao plasminogênio, liga-se ao complexo

terciário, formando um complexo quaternário e diminuindo a taxa de formação de plasmina ativa. A disfunção das células endoteliais causada pelo acúmulo de Lp(a) e apo(a) diminui a disponibilidade de óxido nítrico (NO^{*}) e contribui para a ativação das metaloproteinases 2 e 9 (MMP-2 e MMP-9) (UEMURA et al., 2001; HANCOCK et al., 2003).

4.7 FOSFOLIPASE A₂ ASSOCIADA A LIPOPROTEÍNAS

4.7.1 Mecanismos fisiopatológicos

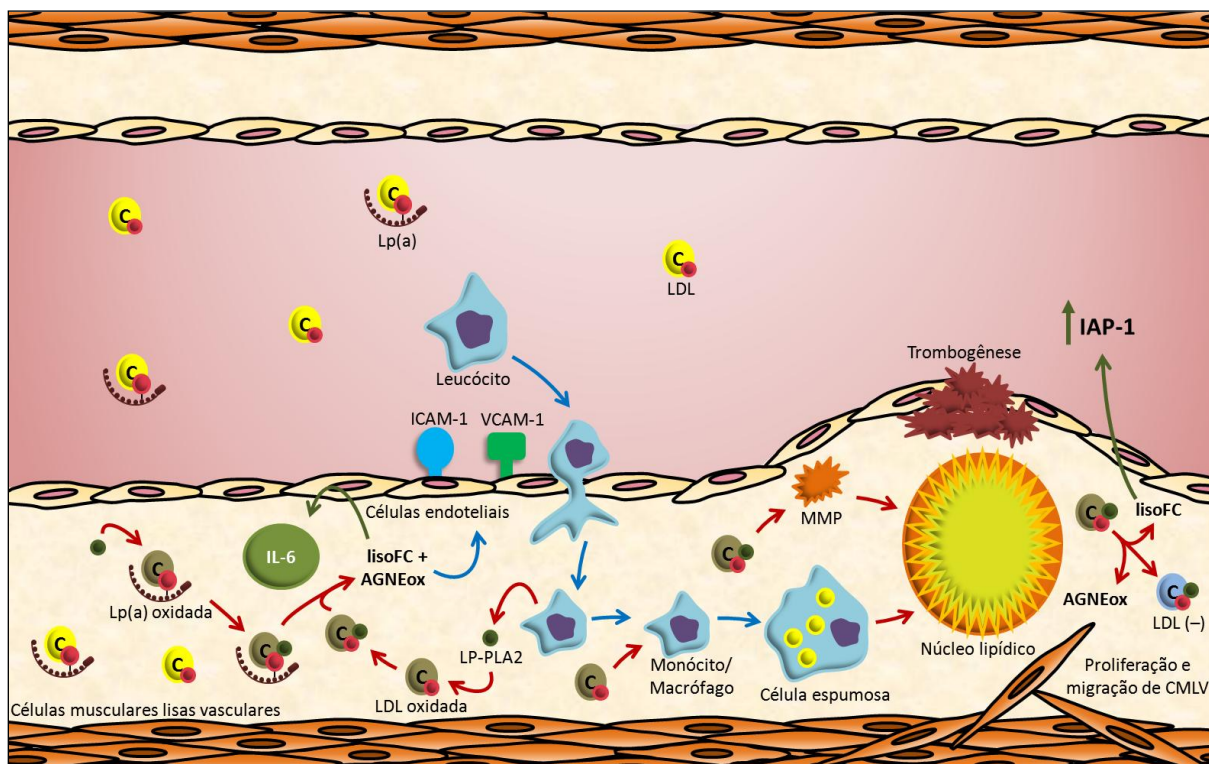
Também conhecida como fator ativador de plaquetas acetilhidrolase, a fosfolipase A₂ associada a lipoproteínas (Lp-PLA₂) foi descoberta em 1980 e descrita como uma enzima de 50 kD com atividade catalítica independente de cálcio. Produzida por uma variedade de células inflamatórias e não inflamatórias, a Lp-PLA₂ é um membro da superfamília das enzimas que hidrolisam fosfolipídeos. Essa enzima foi isolada de plasma humano, eritrócitos, cérebro, fígado e plaquetas. Embora a maior parte da Lp-PLA₂ encontre-se ligada às partículas LDL circulantes, essa enzima liga-se também a lipoproteínas contendo apolipoproteínaB-100 (apoB-100) incluindo lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína(a) e remanescentes de lipoproteínas (FARR et al., 1980; STAFFORINI et al., 1987; SCHALOSKE; DENNIS, 2006).

Inicialmente pensou-se que a Lp-PLA₂ apresentasse propriedade cardioprotetora em virtude de sua atividade hidrolítica sobre o fator ativador de plaquetas (PAF) e sobre a partícula LDL oxidada transformando-a em LDL eletronegativa [LDL(-)], que é uma partícula com menor potencial imunogênico e aterogênico. Porém, estudos posteriores evidenciaram uma atuação importante da Lp-PLA₂ na fisiopatologia da aterosclerose (Figura 11). A Lp-PLA₂ é constituída por 441 resíduos de aminoácidos formando uma estrutura terciária dobrada com conexões em hélice. O gene da Lp-PLA₂ (PLA2G7) é formado por 12 éxons localizados no cromossomo 6. Três resíduos de aminoácidos foram identificados

como essenciais facilitadores para ligação da Lp-PLA₂ à LDL (TEW et al., 1996; ZALEWSKI; MACPHEE, 2005).

Os primeiros estudos identificaram uma atuação catalítica da Lp-PLA₂ na clivagem hidrolítica do fator ativador de plaquetas, modulando a concentração deste

Figura 11: Mecanismos aterogênicos e trombogênicos induzidos pela fosfolipase A₂ associada a lipoproteínas (LP-PLA₂)



As setas azuis indicam etapas pelas quais os leucócitos são recrutados e transportados para a camada íntima onde se tornam macrófagos e posteriormente células espumosas. Os metabólitos formados mediante atividade catalítica da Lp-PLA₂ como os ácidos graxos não esterificados oxidados (AGNEox) e a lisofosfatidilcolina (lisoFC) estimulam a expressão de ICAM-1 e VCAM-1 pelas células endoteliais (QUINN; PARTHASARATHY; STEINBERG, 1988; SHI et al., 2007).

As setas vermelhas esquematizam processos induzidos pela Lp-PLA₂ que favorecem a formação de células espumosas e o núcleo lipídico. As partículas LDL oxidada e Lp(a) oxidada são alvos catalíticos para a Lp-PLA₂. Ao ser enzimaticamente modificada, a LDL oxidada pode ser transformada em LDL eletronegativa [LDL (-)] que apresenta potencial imunogênico e aterogênico inferior àquele da LDL oxidada. Enzimas matriz metaloproteinases podem ser expressas e ativadas mediante ação estimuladora da Lp-PLA₂. (STAFFORINI et al., 1987; MCMANUS; PINCKARD, 2000; BENITEZ et al., 2004; CHEN et al., 2007; BURKE; DENNIS, 2009)

As setas verdes indicam mecanismos exercidos pela Lp-PLA₂ que favorecem a inflamação e a coagulação. AGNEox e lisoFC enzimaticamente produzidos suprarregulam a formação da citocina pró-inflamatória IL-6. O metabólito lisoFC estimula a produção do inibidor do ativador do plasminogênio-1 (IAP-1), que favorece o processo de formação de coágulos (OHAYON et al., 2008; WILENSKY et al., 2008).

fosfolípido e regulando sua função biológica. A Lp-PLA₂, bem como os outros membros da superfamília da fosfolipase A₂, apresentam atividade de hidrólise sobre

glicofosfolipídeos especificamente na posição sn-2, liberando produtos metabólicos biologicamente ativos. A inicial oxidação da partícula LDL, formando a LDL oxidada é condição fundamental para posterior atuação catalítica da Lp-PLA₂ sobre esta lipoproteína, uma vez que os fosfolipídeos das partículas LDL nativas não sofrem hidrólise por essa enzima. Processo semelhante ocorre com a Lp(a), que em seu estado oxidado sofre ação catalítica da Lp-PLA₂. Desta forma, a LDL oxidada e a Lp(a) oxidada, na camada subendotelial, possuem fosfolipídeos oxidados que são hidrolisados pela Lp-PLA₂ produzindo lipídeos bioativos como o lisofosfatidilcolina (lisoFC) e ácidos graxos não esterificados oxidados (AGNEox). LisoFC e AGNEox atuam como importantes mediadores do processo inflamatório promovendo aumento da expressão de moléculas de adesão e citocinas ativando leucócitos, recrutando monócitos e macrófagos com consequente estímulo à iniciação e progressão do processo aterosclerótico (STAFFORINI et al., 1987; QUINN; PARTHASARATHY; STEINBERG, 1988; MCMANUS; PINCKARD, 2000; BENITEZ et al., 2004; CHEN et al., 2007; SHI et al., 2007; BURKE; DENNIS, 2009).

A presença dos produtos da Lp-PLA₂ na camada íntima estimula a expressão de ICAM-1, VCAM-1 e IL-6 pelas células endoteliais. Esses eventos favorecem o recrutamento e a transmigração de leucócitos e o estabelecimento de um estado inflamatório no microambiente do vaso sanguíneo. Células como os mastócitos são estimuladas a produzir proteases e matriz metaloproteinases que atuam cataliticamente na formação do núcleo lipídico e na trombogênese. Estudos demonstram que lisoFC tem a propriedade de regular positivamente a síntese e liberação do inibidor do ativador de plasminogênio-1, estimulando o processo de formação da rede de fibrina e a posterior formação de coágulos (Figura 10) (OHAYON et al., 2008; WILENSKY et al., 2008).

4.8 APOLIPOPROTEÍNA A-I / APOLIPOPROTEÍNA B

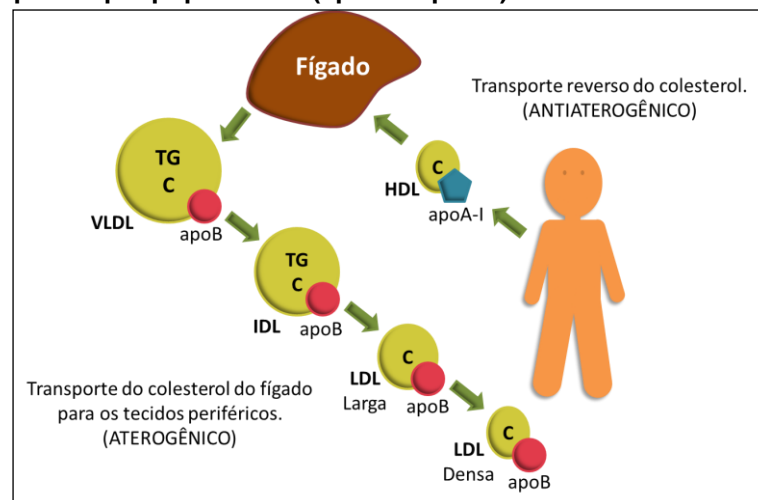
4.8.1 Mecanismos fisiopatológicos

Apolipoproteínas são proteínas associadas a camadas fosfolipídicas das lipoproteínas que desempenham funções importantes no metabolismo lipídico como transporte plasmático, distribuição órgão específica dependente de receptores,

ativação e inibição de enzimas do metabolismo de lipídeos. Diversas condições fisiopatológicas associadas às apolipoproteínas determinam desregulação do metabolismo lipídico e podem atuar na origem e progressão de doenças cardiovasculares. Muitos estudos epidemiológicos demonstram uma relação entre níveis plasmáticos anormais das apolipoproteínas e o risco de eventos cardiovasculares adversos (KAMANNA; GANJI; KASHYAP, 2013).

A composição das apolipoproteínas define o papel e a função da lipoproteína. A apolipoproteína A-I (apoA-I) é o principal componente da partícula HDL e apresenta atuação antiaterogênica. A apolipoproteína B (apoB) é um componente das potenciais partículas aterogênicas VLDL, IDL e LDL. Desta forma, apoA-I representa um fator cardioprotetor, enquanto apoB representa um fator de risco cardiovascular adverso (Figura 12).

Figura 12: Transporte sistêmico de colesterol regulado pelas apolipoproteínas (apoB e apoA-I)



A apoB associa-se às partículas que transportam do colesterol do fígado para os tecidos constituindo um fator potencialmente aterogênico. Em contrapartida, a apoA-I associa-se à HDL que transporta colesterol dos tecidos para o fígado permitindo sua eliminação via digestiva, o que constitui um fator antiaterogênico (BARTER; RYE, 2006; MARCOVINA; PACKARD, 2006; ROBINSON; WANG; JACOBSON, 2012).

A apoA-I é uma proteína altamente conservada que ocorre em diversas espécies de vertebrados apresentando sequências peptídicas que variam de 258 a 267 aminoácidos. A estrutura secundária da proteína possui distintas classes de alfa hélices anfipáticas que controlam interações específicas a lipídeos. A apoA-I é

secretada pelo fígado, pelo intestino delgado ou é formada a partir da dissociação de partículas de lipoproteína do plasma. A partícula HDL e a apoA-I apresentam uma atuação importante no transporte reverso do colesterol. Esse processo consiste no transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, o que possibilita a transformação hepática do colesterol em ácidos biliares e sua subsequente eliminação via sistema digestivo. A eficiência do transporte reverso do colesterol depende da capacidade da apoA-I de exercer o efluxo celular de colesterol, interagir com lipídeos, ativar a enzima lecitina-colesterol aciltransferase, formar partículas HDL maduras e ligar-se a receptores celulares. A apoA-I também exerce efeitos em mecanismos anti-inflamatórios e antioxidantes, atuando, portanto na cardioproteção (BARTER; RYE, 2006; MARCOVINA; PACKARD, 2006).

A apoB-100 é expressa principalmente no fígado e a apoB-48 nas células do intestino. A diferença entre os dois subtipos ocorre mediante edição do RNA mensageiro durante a síntese proteica nos enterócitos, mas não nos hepatócitos. A proteína reguladora Complexo de edição da apoB-100 catalisa a desaminação de uma citosina em uridina na posição 6666 da molécula de RNA mensageiro formando um códon de terminação. O resultado é a síntese, no enterócito, de uma apoB com 48% do peso molecular da apoB-100 sintetizada no hepatócito, onde não há edição do RNA mensageiro. O subtipo quantitativamente predominante na circulação sanguínea consiste em apoB-100 mesmo em estado pós-prandial. Desta forma, o termo apoB geralmente refere-se à apoB-100. As partículas que contém apoB transportam colesterol e triglicerídeos (VLDL, IDL) e colesterol (LDL) do fígado para os tecidos. A captação do colesterol das partículas contendo apoB pelas células dos tecidos periféricos e pelos hepatócitos ocorre mediante interação com receptores específicos (MARCOVINA; PACKARD, 2006; ROBINSON; WANG; JACOBSON, 2012).

4.9 PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS

4.9.1 Mecanismos fisiopatológicos

A descoberta dos hormônios peptídeos natriuréticos na fisiologia circulatória e renal teve início em 1981, quando Bold et al demonstraram diminuição da pressão

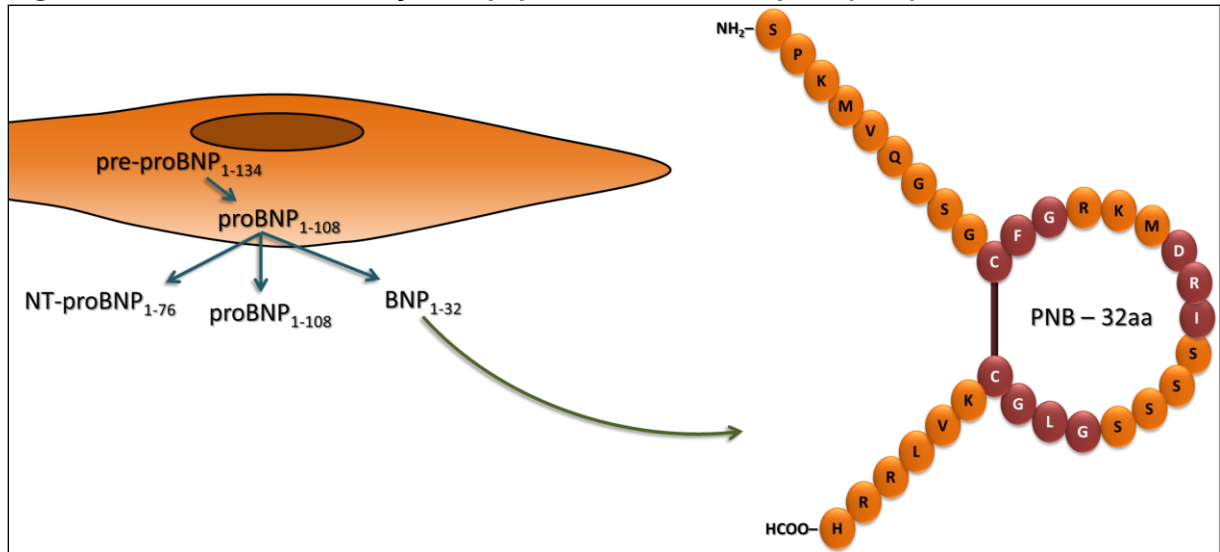
sanguínea e aumento da natriurese em ratos após injeção intravenosa de extrato de tecido atrial. Posteriormente o peptídeo responsável pelo efeito foi isolado do extrato e denominado peptídeo atrial natriurético (ANP). Estudos posteriores isolaram um peptídeo estruturalmente semelhante no tecido cerebral porcino que foi chamado de peptídeo natriurético cerebral. Descobriu-se que este peptídeo é predominantemente produzido pelo miocárdio, logo passou a ser mais comumente referenciado como peptídeo natriurético tipo-B (BNP) (MINAMINO et al., 1988; DE BOLD et al., 2001).

O ANP e o BNP atuam na manutenção da pressão arterial e no equilíbrio eletrolítico através da diminuição da resistência vascular, do aumento da diurese e do aumento da excreção de sódio. O efeito, portanto é a diminuição da pressão sanguínea sistêmica. Um terceiro peptídeo estruturalmente semelhante, o peptídeo natriurético tipo-C (CNP) foi isolado de cérebro porcino e não apresentou atividade biológica evidente. Os peptídeos ANP, BNP e CNP de seres humanos apresentam 28, 32 e 22 resíduos de aminoácidos em suas estruturas respectivamente. Vários estudos evidenciam a correlação entre os níveis plasmáticos dos produtos do gene do BNP e insuficiência cardíaca, bem como outras doenças cardiovasculares a exemplo da coronariopatia. Existem métodos analíticos estabelecidos para determinação dos produtos do gene do BNP que são utilizados atualmente para diagnóstico e acompanhamento de pacientes com insuficiência cardíaca. Os peptídeos importantes para este fim são o BNP e o fragmento N-terminal do pré-peptídeo natriurético tipo-B (NT-proBNP) (ABURAYA et al., 1989; DICKSTEIN et al., 2008; HUNT, 2010).

Muito embora o tecido ventricular cardíaco seja o local de maior produção do BNP, tecidos de outros órgãos como pulmão, tireoide, baço, rim, intestino delgado, ovário, útero, músculo estriado e sistema nervoso central também expressam esse hormônio peptídico. O BNP é codificado por um gene localizado na região distal do braço curto do cromossomo 1. Este gene contém três éxons e dois introns. O hormônio é sintetizado como o precursor pré-proBNP de 134 resíduos de aminoácidos. No retículo endoplasmático, o pré-proBNP é clivado proteoliticamente em uma sequência sinal peptídica de 26 resíduos de aminoácidos e o precursor proBNP de 108 resíduos de aminoácidos. A enzima corina cliva o proBNP em dois peptídeos, o biologicamente ativo peptídeo natriurético tipo-B (BNP) de 32 aminoácidos e o biologicamente inativo fragmento N-terminal do proBNP (NT-proBNP) de 76 resíduos de aminoácidos. A região carboxiterminal corresponde ao

hormônio maduro que contém um anel de 17 resíduos de aminoácidos formado através de uma ponte dissulfeto intramolecular. Este anel possui importância fundamental à atividade biológica do peptídeo por mediar uma justa interação com os seus receptores (Figura 13) (MISONO et al., 1984; HUNT et al., 1995; ELIN; WINTER, 2004).

Figura 13: Biossíntese e liberação do peptídeo natriurético tipo-B (BNP)



O processo inicia com a síntese do precursor peptídico pre-proBNP₁₋₁₃₄ que é clivado formando o pro-hormônio proBNP₁₋₁₀₈ de 108 resíduos de aminoácidos. O proBNP₁₋₁₀₈ por sua vez, é enzimaticamente clivado nos dois fragmentos NT-proBNP₁₋₇₅ e BNP₁₋₃₂ que são liberados em quantidades equimolares. Uma parte do proBNP₁₋₁₀₈ pode ser liberada antes de sofrer ação proteolítica. A molécula do BNP₁₋₃₂ apresenta 32 resíduos de aminoácidos formando um anel de 17 resíduos de aminoácidos através de uma ponte dissulfeto intramolecular que é fundamental à sua atividade biológica. O NT-proBNP₁₋₇₅ é biologicamente inativo (MISONO et al., 1984; HUNT et al., 1995; ELIN; WINTER, 2004).

O BNP exerce seus efeitos biológicos através da interação com os receptores de peptídeos natriuréticos A e C (NPR-A e NPR-C). O NPR-A é um receptor enzimático ligado à membrana plasmática que possui um domínio ligante extracelular, um domínio hidrofóbico transmembranar e um domínio dimérico intracelular ligado a um domínio carboxiterminal ciclase de guanilil. Pela atividade catalítica ciclase de guanilil, o nucleotídeo trifosfato de guanosina é convertido no metabólito monofosfato cíclico de guanosina (cGMP), que por sua vez exerce efeitos fisiológicos importantes. O NPR-B apresenta semelhança estrutural e funcional com NPR-A, porém parece não atuar de forma importante na interação com o BNP. O NPR-C apresenta semelhança com o NPR-A e o NPR-B no domínio extracelular, mas possui apenas 37 resíduos de aminoácidos em seu domínio intracelular.

Estudos demonstram a expressão do NPR-A nos tecidos renal, adrenal, adiposo, aórtico, pulmonar e cerebral (LOWE et al., 1989; SCHULZ et al., 1989; NAGASE et al., 1997).

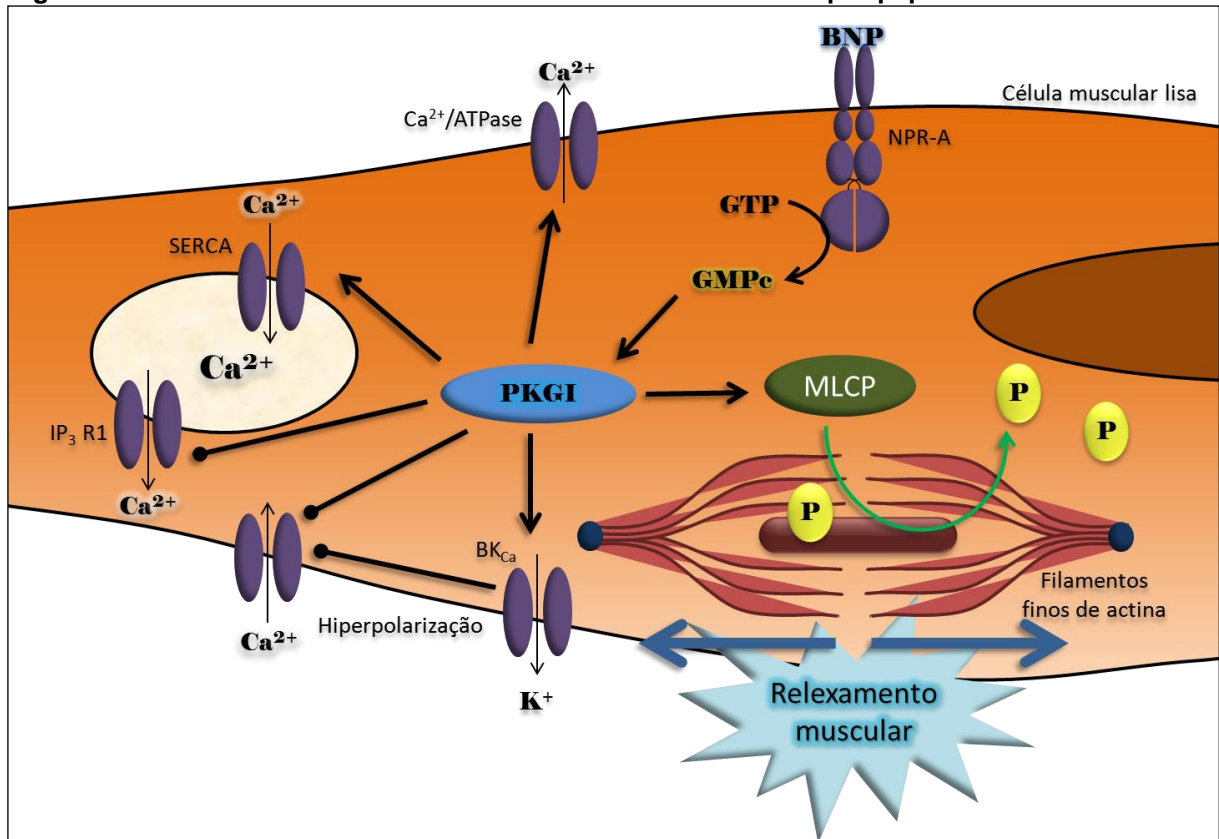
O segundo mensageiro cGMP, sintetizado através do NPR-A ativado pelo BNP ou pelo ANP, exerce seus efeitos mediante interação junto a três classes de proteínas distintas: as proteínas cinases dependentes de cGMP (PKGs), as fosfodiesterases ligadoras de cGMP (PDEs) e os canais iônicos dependentes de nucleotídeos cíclicos (LOHMANN et al., 1997; SCHLOSSMANN; FEIL; HOFMANN, 2005).

Uma das funções fisiológicas do BNP, importante na regulação da pressão arterial sistêmica, é o relaxamento do músculo liso vascular. A estimulação dos NPR-A pelo peptídeo natriurético ativa a função enzimática relacionada a esse receptor que passa catalisar a conversão de GTP em cGMP. Este nucleotídeo cíclico, cuja concentração intracelular torna-se aumentada, estimula a PKGI que fosforila proteínas alvos ativando-as ou inativando-as. PKGI inibe o receptor de trifosfato de inositol (IP_3), estimula as bombas cálcio-ATPase da membrana plasmática e cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA), bem como estimula os canais de potássio/cálcio (BK_{Ca}) da membrana plasmática. O resultado destas fosforilações é a diminuição da concentração de cálcio citosólica. PKGI fosforila a cadeia leve de miosina promovendo sua inativação, uma vez que esta se torna menos sensível à concentração citosólica de cálcio. Neste contexto metabólico, a interação entre as cadeias de miosina e actina encontra-se majoritariamente inibida. Desta forma, um dos efeitos da estimulação dos NPR-A é o relaxamento do músculo liso vascular com consequente aumento do diâmetro interno dos vasos e redução da pressão arterial (Figura 14) (PFEIFER et al., 1998).

A atuação dos peptídeos natriuréticos via estimulação dos NPR-A resulta em diminuição da volemia através do aumento da filtração glomerular, da diminuição da reabsorção de água e de sódio e da redução da secreção de renina. Estes efeitos ocorrem mediante sinalização celular dependente de cGMP. Estudos indicam que o BNP inibe a proliferação de fibroblastos cardíacos em cultura. A diminuição da fibrose cardíaca pelo BNP provém da ação deste peptídeo mediante via da MAPK. A fibrose cardíaca estimulada pelos baixos níveis de BNP envolve o aumento da expressão de MMP, uma vez que a ação desse hormônio regula os níveis dessas enzimas. O BNP tem participação na dilatação pulmonar e na hipertensão pulmonar.

Os pulmões apresentam elevada expressão dos três receptores de peptídeos natriuréticos e pacientes com hipertensão pulmonar apresentam elevados níveis de BNP e ANP. Além do uso no diagnóstico da insuficiência cardíaca, o BNP é utilizado no diagnóstico de pacientes com hipertensão, insuficiência renal crônica, bem como na estimativa do risco de morte em pacientes com insuficiência cardíaca (HARRIS; THOMAS; MORGAN, 1987).

Figura 14: Mecanismo de relaxamento do músculo liso induzido por peptídeo natriurético



O BNP interage com o receptor tipo-A de peptídeo natriurético (NPR-A) estimulando a atividade ciclase de guanilil que exerce catálise sobre os nucleotídeos GTP aumentando as concentrações citosólicas de GMPc. Neste cenário, a proteína cinase G (PKG) é ativada e promove seus efeitos na fisiologia celular através da fosforilação dos substratos. PKG fosforila os receptores tipo-1 de trifosfato de inositol (IP₃-R1) inibindo-os, estimula a cálcio/ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA) e estimula os canais de cálcio/potássio (B/K_{Ca}) promovendo a diminuição das concentrações de Ca²⁺ intracelulares. A ativação dos B/K_{Ca} altera o potencial de membrana causando a hiperpolarização que diminui o influxo de Ca²⁺ através dos canais de Ca²⁺ dependentes de voltagem. A PKG fosforila a Ca²⁺ATPase ativando-a e promovendo o efluxo do Ca²⁺ citosólico. A fosforilação e ativação da fosfatase de cadeia leve de miosina (MLCP) promove o aumento dos níveis de Ca²⁺ necessários à contração muscular, diminuindo a sensibilidade ao Ca²⁺. A combinação do processo de redução do Ca²⁺ intracelular com a diminuição da sensibilidade ao Ca²⁺ resulta no efeito geral do relaxamento muscular (PFEIFER et al., 1998).

4.10 MIELOPEROXIDASE

4.10.1 Mecanismos fisiopatológicos

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima pertencente à família das heme peroxidases que constitui um subgrupo da superfamília peroxidase-cicloxigenase. Possui uma estrutura tridimensional que consiste em dois protômeros idênticos covalentemente ligados por uma ponte dissulfeto na cisteína 153 formando um homodímero. Cada dímero contém uma cadeia alfa pesada com 466 resíduos de aminoácidos, uma cadeia beta leve de 108 resíduos de aminoácidos, um grupo heme funcional e um sítio de ligação ao cálcio importante para a estruturação molecular da enzima. A cadeia alfa de cada dímero contém cinco resíduos de aminoácidos que atuam como sítios para ligações tipo N-glicosilação de glicanos tipo manose, essencial à estruturação e atividade catalítica da molécula (ZENG; FENNA, 1992; BULOW et al., 2002; ZAMOCKY et al., 2008; RAVNSBORG; HOUEN; HOJRUP, 2010; VAN ANTWERPEN et al., 2010).

A expressão da mieloperoxidase ocorre nas células hematopoiéticas da linhagem mieloide sendo predominantemente encontradas em células polimorfonucleares e em monócitos. Nos neutrófilos a enzima é produzida durante a diferenciação celular, tendo a produção cessada em neutrófilos maduros. Nos macrófagos, entretanto, a produção ocorre continuamente, tendo sua expressão induzida em eventos fisiopatológicos como aterosclerose, infecções e doenças neurodegenerativas (LEFKOWITZ; LEFKOWITZ, 2008; CHANG et al., 2011).

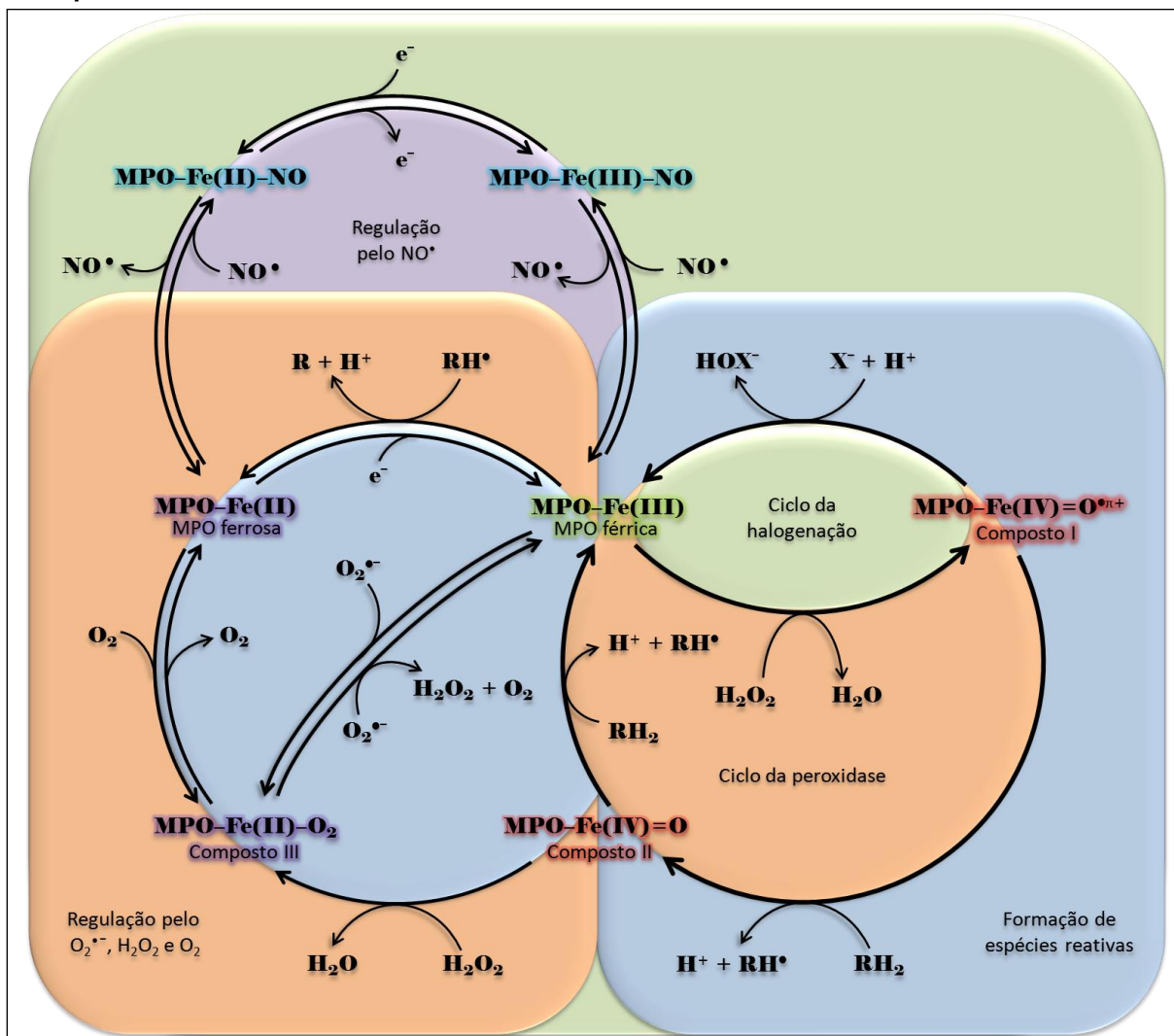
A mieloperoxidase catalisa reações de oxidação e redução que envolvem mecanismos complexos com muitos intermediários e substratos conhecidos (Figura 14). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2), formado durante a respiração mitocondrial pela desmutação do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), é uma espécie reativa de fundamental importância na cinética geral da MPO. O H_2O_2 é reduzido mediante concomitante oxidação de um ou dois elétrons de uma diversidade de substratos da MPO. Em meio aos mecanismos catalíticos exercidos pela MPO, o ciclo da halogenação e o ciclo da peroxidase compreendem reações importantes na geração de espécies reativas oxidantes que atuam na gênese e desenvolvimento do processo

aterosclerótico. A reação comum aos dois ciclos é a redução do H_2O_2 a H_2O , onde a mieloperoxidase apresenta o átomo de ferro no estado íon férrico [MPO férrica ou MPO-Fe(III)], que é o estado nativo da enzima. Nesta reação, a MPO férrica é convertida a um estado intermediário de vida curta, o composto I, que contém o grupo heme oxidado com falta de dois elétrons (e^-) constituindo o radical cátion porfirina- π ($\text{MPO-Fe(IV)=O}^{\pi+}$). No ciclo da halogenação, esse intermediário é reduzido regenerando a MPO-Fe(III) mediante oxidação de dois elétrons de compostos halídicos como Cl^- , Br^- e I^- , ou pseudohalídicos como o SCN^- , resultando na formação de ácidos hipo(pseudo-)halosos como ácido hipocloroso ou ácido hipobromoso. Em condições fisiológicas, cloridrato e tiocianato são os principais substratos para a redução do composto I e os ácidos hipocloroso (HOCl) e hipotiocianoso (HOSCN) são os produtos principais. Estes, por sua vez, são espécies altamente reativas que modificam a estrutura química de biomoléculas importantes e participam da oxidação de partículas LDL (DAVIES, 2011; GUMIERO et al., 2011).

A MPO apresenta atuação significativa na inflamação e na aterosclerose. A presença da enzima nos tecidos vasculares constitui a evidência inicial da sua participação no processo aterosclerótico. O composto I pode ser regenerado à MPO-Fe(III) através do ciclo da peroxidase mediante a redução sequencial de um e^- em dois passos sucessivos (Figura 15). Nesse ciclo, uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos como aminoácidos, estrogênios, catecolaminas, derivados do fenol e indol, urato, nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO^\bullet) e outros podem ser oxidados. No primeiro passo, $\text{MPO-Fe(IV)=O}^{\pi+}$ é reduzido, pela transferência de um elétron, a MPO-Fe(IV)=O (composto II). Este não dispõe do cátion porfirina- π sendo incapaz de reagir com compostos halídicos. A segunda transferência de um elétron é o passo limitante da reação, onde ocorre a regeneração da MPO férrica (FURTMULLER et al., 2006; XIMENES et al., 2010).

Além das reações envolvidas no ciclo da halogenação e no ciclo da peroxidase, a MPO promove um conjunto de reações relacionadas a dois estados distintos da enzima, a MPO ferrosa [MPO-Fe(II)], e o composto III [MPO-Fe(II)-O_2]. Esses estados estão envolvidos com reações que resultam tanto na depleção de espécies reativas do meio, quanto na regulação da cinética geral da MPO, inclusive na regulação dos ciclos da halogenação e da peroxidase. A MPO-Fe(II) pode ser formada através da reação entre a MPO férrica e os intermediários reduzidos (RH^\bullet)

Figura 15: Mecanismos catalíticos e intermediários metabólicos da atividade da mieloperoxidase



No ciclo da halogenação a MPO férrica reage com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) reduzindo-o a H_2O e formando o composto I. Este composto pode ser reduzido de volta a MPO férrica mediante oxidação de dois elétrons de compostos halídicos ou pseudohalídicos (X^-) formando seus respectivos ácidos (HOX^-). O composto I também pode ser reduzido a MPO férrica mediante oxidação de um elétron em duas reações sequenciais via formação do intermediário reativo composto II através do ciclo da peroxidase. Neste ciclo, uma variedade de substratos orgânicos (RH_2) e inorgânicos podem ser oxidados em um elétron tornando-se radicais (RH^\bullet). Os ciclos da halogenação e da peroxidase produzem espécies reativas capazes de modificar biomoléculas importantes e favorecer o processo aterosclerótico e trombogênico (FURTMULLER et al., 2006; XIMENES et al., 2010; DAVIES, 2011; GUMIERO et al., 2011).

A MPO pode assumir os estados MPO ferrosa e composto III envolvidos na regulação da catálise geral pelo $\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 e O_2 . A MPO ferrosa pode ser formada pela reação dos radicais (RH^\bullet) produzidos no ciclo da peroxidase com a MPO férrica ou pela liberação do O_2 do composto III. O composto III pode ser gerado através da reação entre o superóxido e a MPO férrica, da combinação entre o oxigênio bimolecular e a MPO ferrosa ou da redução do H_2O_2 pelo composto II (KETTLE; WINTERBOURN, 1988; JANTSCHKO et al., 2004; WINTERBOURN et al., 2006).

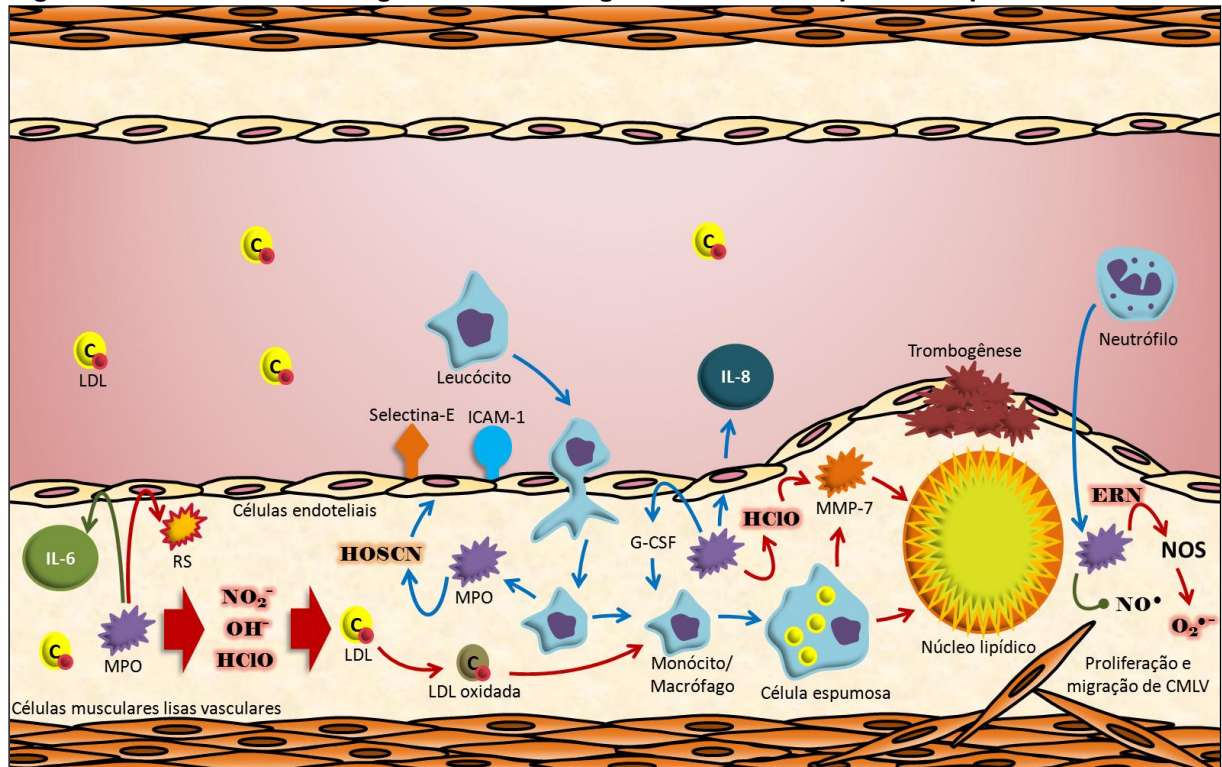
Além de um possível substrato da MPO, o NO^\bullet pode combinar-se com a enzima formando dois estados adicionais (MPO-Fe(III)-NO e MPO-Fe(II)-NO) que atuam na regulação cinética da catálise geral enzimática. [(Compostos halídicos X^- : Cl^- , Br^- e I^- ; pseudohalídicos X^- : SCN^-); (Ácidos hipo(pseudo)halídicos: HOCl (hipocloroso), HOBr , HOI , HOSCN (hipotiocianoso))].

produzidos no ciclo da peroxidase, consumindo essas espécies reativas. A formação do composto III pode ocorrer através de três reações distintas sendo favorecidas pela presença de $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 e O_2 . Na presença de $O_2^{\cdot-}$, a MPO férrica pode ser convertida em composto III que posteriormente, pode ser regenerada a MPO férrica mediante consumo adicional de $O_2^{\cdot-}$ estabelecendo assim, uma função de desmutase. O composto II pode ser convertido em composto III através da redução da H_2O_2 em H_2O . A reação entre o oxigênio molecular (O_2) e a MPO-Fe(II) forma a MPO-Fe(II)- O_2 . De uma forma geral, as concentrações relativas de superóxido, oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio promovem modificações cinéticas na catálise geral exercida pela mieloperoxidase (KETTLE; WINTERBOURN, 1988; JANTSCHKO et al., 2004; WINTERBOURN et al., 2006).

O NO^{\cdot} desempenha função importante na regulação catalítica da MPO. Na presença do NO^{\cdot} , a velocidade do ciclo da peroxidase apresenta-se cerca de 1000 aumentada. Estudos cinéticos revelam que baixas concentrações de NO^{\cdot} aumentam a peroxidação de substratos pela MPO mediante aceleração do passo catalítico limitante que é a redução do composto II à MPO férrica. Elevadas concentrações de NO^{\cdot} promovem a inibição reversível da MPO através da formação do complexo nitrosídico MPO-Fe(III)-NO. Este estado ocorre em equilíbrio com o intermediário MPO-Fe(II)-NO, que por sua vez, estabelece equilíbrio com a MPO-Fe(II).

Uma diversidade de interações entre as células endoteliais e a MPO contribuem para a gênese e progressão do processo aterosclerótico. O ácido hipotiocianoso (HOSCN), formado pela catálise da MPO no microambiente fisiológico, atua como um potente indutor da expressão de selectina-E e ICAM-1. Essas moléculas de adesão facilitam a transmigração de leucócitos para a camada subendotelial. A MPO, no seu estado de enzima inativa, também pode favorecer o processo aterosclerótico através da interação entre sua estrutura proteica e a camada endotelial. Essa proteína estimula diretamente as células endoteliais a produzirem espécies reativas que podem difundir-se para o microambiente subendotelial. Além disso, o estímulo direto pela MPO regula positivamente a expressão de IL-8, IL-6 e o fator estimulador de colônia granulocítica (CSF-G). A IL-8 atua como uma potente citocina indutora da ativação e migração de leucócitos, enquanto que a IL-6 promove a gênese e a progressão do processo inflamatório (Figura 16) (LEFKOWITZ et al., 2000).

Figura 16: Mecanismos aterogênicos e trombogênicos induzidos pela mieloperoxidase



As setas azuis esquematizam as interações entre a mieloperoxidase e o endotélio no favorecimento da transmigração de leucócitos e formação de células espumosas. A MPO catalisa a produção de ácido hipotiocianoso (HOSCN) que induz a expressão de selectina-E e ICAM-1 pelas células endoteliais facilitando a transmigração de leucócitos. A ação direta da proteína MPO regula positivamente a expressão da interleucina-8 (IL-8), que é uma potente citocina indutora da ativação e migração de leucócitos, e do fator estimulador de colônia granulocítica (CSF-G). A MPO liberada por neutrófilos pode migrar para a camada íntima e exercer seus efeitos aterogênicos (LEFKOWITZ et al., 2000).

As setas vermelhas demonstram as ações oxidativas da MPO na aterosclerose. A produção de espécies reativas como o nitrito (NO_2^-), radical hidroxila (OH^\cdot), e o ácido hipocloroso (HClO) promovem modificações oxidativas nas partículas LDL tornando-as LDL oxidadas que são desreguladamente captadas por macrófagos que se transformam em células espumosas. O HClO ativa a matriz metaloproteinase-7 (MMP-7) que degrada a matriz extracelular facilitando a formação do núcleo lipídico. Espécies reativas de nitrogênio produzidas via MPO promovem o desacoplamento da óxido nítrico sintase (NOS) com consequente diminuição da produção de óxido nítrico (NO^\cdot). Além disso, a NOS passa a produzir o radical íon superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), que contribui na formação de outras espécies reativas (HAZELL; STOCKER, 1993; HAZEN et al., 1999; PODREZ et al., 1999; MOTT; WERB, 2004; WANG et al., 2007).

As setas verdes indicam mecanismos inflamatórios e fisiopatológicos exercidos pela MPO sobre a integridade endotelial. A ação direta da proteína MPO sobre as células endoteliais regula positivamente a produção e liberação de interleucina-6 (IL-6) que atua na gênese e progressão do processo inflamatório. A MPO pode consumir moléculas de NO^\cdot durante sua atividade catalítica diminuindo sua concentração e alterando a homeostase vascular favorecendo vasoconstrição e trombogênese (ZHANG et al., 2001; ZOU; SHI; COHEN, 2002).

A predominante carga positiva da MPO liberada por neutrófilos em pH fisiológico estabelece atração pelas cargas negativas da camada de glicocálix da superfície endotelial, facilitando a sua ligação e transmigração vascular. A MPO acumula-se na região basolateral da camada endotelial, onde catalisa produção de

nitritos que promovem nitração de resíduos de tirosina de proteínas da matriz. Uma vez localizada na camada íntima do vaso, a MPO catalisa a produção de ácido hipocloroso (HClO) que ativa a matriz metaloproteinase-7 (MMP-7) através da oxidação de resíduo de cisteína localizado no sítio ativo. A MMP-7 catalisa a degradação da matriz extracelular que pode resultar na liberação de fatores de crescimento e na formação de estruturas fibrosas do núcleo lipídico. A MPO catalisa a formação de espécies reativas como o nitrito (NO_2^-), radical hidroxila (OH^\cdot), e o HClO que promovem modificações oxidativas em fosfolípidos, ácidos graxos, e resíduos de aminoácidos nas partículas LDL e nas Lp(a) nativas tornando-as LDL oxidadas e Lp(a) oxidadas. Ensaios que utilizam espectrometria de massa, bem como experimentos imunohistoquímicos detectaram lípidos ativos clorados e proteínas com resíduos de tirosina clorados provenientes da ação oxidativa da MPO. Resíduos de lisina da apolipoproteína B-100 pertencentes às partículas LDL e às Lp(a) são oxidadas por HOCl. Espécies reativas de nitrogênio (ERN) provenientes da catálise da MPO geram produtos como resíduos de nitrotirosina na porção proteica das LDLs formando LDL nitrada (NO_2 -LDL). Uma vez oxidadas, a LDL e a Lp(a) podem ser captadas não reguladamente por macrófagos via receptores scavenger formando células espumosas (HAZELL; STOCKER, 1993; HAZEN et al., 1999; PODREZ et al., 1999; MOTT; WERB, 2004; WANG et al., 2007).

A MPO promove disfunção endotelial pela diminuição do NO^\cdot , importante regulador da homeostase vascular. Parte do NO^\cdot produzido pelas células endoteliais é consumido durante as reações oxidorreduativas de um elétron pela MPO acumulada na região da membrana basolateral, diminuindo a quantidade deste vasodilatador e prejudicando a regulação homeostática da contração vascular. A MPO pode atuar como um depletor de NO^\cdot , uma vez que este radical estável é um substrato para o composto I em sua redução ao composto II no ciclo da peroxidase. O HClO produzido durante reações catalisadas pela enzima, oxida resíduos de lisina e diminui o poder vasodilatador endotelial. Além disso, espécies reativas de nitrogênio, produzidas pela MPO, promovem desacoplamento da óxido nítrico sintase que passa a produzir o ânion superóxido em detrimento do óxido nítrico. A disfunção endotelial promovida pela MPO também compreende alteração na permeabilidade vascular, desregulação na liberação de fatores inflamatórios e da coagulação (ZHANG et al., 2001; ZOU; SHI; COHEN, 2002).

5 DISCUSSÃO

5.1 PROTEÍNA-C REATIVA

O acúmulo de estudos epidemiológicos ocorrido nas últimas décadas demonstra que níveis de PCR plasmáticos, medidos através de métodos de alta sensibilidade, estão associados à elevada probabilidade de ocorrência de eventos patológicos cardiovasculares agudos. Entre as doenças relacionadas estão incluídas o infarto do miocárdio, morte cardíaca súbita, acidente vascular cerebral e doença arterial periférica (RIDKER et al., 2002; DANESH et al., 2004; JIALAL; DEVARAJ; VENUGOPAL, 2004).

A proteína-C ultrasensível (PCRus) é um forte e independente fator preditivo do risco cardiovascular mesmo em indivíduos aparentemente normais. Esse fator também atua como um marcador da progressão de doenças vasculares subclínicas e hipertensão. A propriedade de biomarcador da PCR aplica-se a homens e mulheres em todas as idades, oriundos de variadas populações, e em todos os níveis de colesterol LDL adicionando informação prognóstica ao escore de risco de Framingham (RIDKER et al., 2000; VAN DER MEER et al., 2002).

Importantes dados epidemiológicos demonstraram que níveis de PCRus previram subsequente risco cardiovascular melhor que níveis de LDL colesterol. Dados estatísticos indicam que o perfil lipídico não constitui o único aparato preditivo para futuros eventos cardiovasculares de morbidade e mortalidade. Além disso, muitos indivíduos que apresentaram normais ou baixos níveis de colesterol foram acometidos de subseqüentes doenças de natureza cardiovascular. A medida da PCRus adicionada ao perfil lipídico representa um aparato mais efetivo na predição do risco cardiovascular, uma vez que a PCR reflete um componente metabolicamente distinto daquele do colesterol (RIDKER et al., 2002).

No estudo epidemiológico *Physician's Health Study*, aproximadamente 22.000 homens inicialmente saudáveis foram acompanhados por um período de oito anos e detectou-se que indivíduos que desenvolveram infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral apresentavam níveis altos de PCRus em comparação a indivíduos que não desenvolveram esses eventos. Dados deste estudo indicaram que a PCR

constitui melhor fator de risco preditivo para eventos cardiovasculares que vários outros fatores inflamatórios como o fibrinogênio e a interleucina-6 (RIDKER et al., 2000).

Indivíduos que apresentam níveis elevados de PCRus e baixos níveis de colesterol LDL, estão sujeitos a um risco cardiovascular absoluto maior que indivíduos apresentando níveis baixos de PCRus e níveis elevados de colesterol LDL, refletindo, portanto, um prognóstico clínico menos favorável. Estabelecendo um comparativo entre PCRus e os biomarcadores tradicionais, pode-se informar que níveis de PCRus menores que 1, de 1 a 3, e maiores que 3 mg/dL podem ser interpretados como baixo, moderado e elevado risco cardiovascular relativo respectivamente. Os níveis de PCRus não variam em função da alimentação, do ciclo circadiano, e mantêm-se constante por longos períodos. Valores plasmáticos de PCRus maiores que 8 mg/dL podem significar tanto o alto risco de futuros eventos cardiovasculares como a ocorrência de processos infecciosos agudos, fazendo-se necessária a utilização de métodos diagnósticos para diferenciação. Níveis de PCRus acima de 3 mg/dL predizem eventos coronarianos recorrentes e complicações trombóticas após procedimentos cirúrgicos vasculares (VAN DER MEER et al., 2002; DANESH et al., 2004; JIALAL; DEVARAJ; VENUGOPAL, 2004).

Importantes estudos realizados em todo o mundo corroboram com esses dados evidenciando a PCR como fator de risco independente e aditivo aos fatores de risco tradicionais.

5.2 HOMOCISTEÍNA

A homocisteína está incluída entre os mais de 200 fatores de risco indicados para diagnóstico, acompanhamento e prevenção de doenças cardiovasculares. Embora os dados na literatura acerca do valor preditivo cardiovascular da homocisteína apresentem controvérsias, muitos estudos epidemiológicos demonstram uma relação positiva entre hiperhomocisteinemia e eventos cardiovasculares adversos (NYGARD et al., 1995; CASTELLI, 1996).

A correlação entre os níveis de homocisteína e colesterol LDL ou colesterol HDL foi demonstrada por diversos estudos. A HHcy apresentou-se como fator de

risco independente para eventos ateroscleróticos e doença coronariana em pacientes hiperlipidêmicos. A homocisteína plasmática demonstrou relação positiva com pressão arterial sistêmica em indivíduos saudáveis e em pacientes diabéticos. A correlação entre HHcy e espessura da carótida foi mais forte entre indivíduos hipertensos que normotensos. Dados indicam que os níveis de homocisteína aumentam quase que proporcionalmente ao número de cigarros consumidos por dia, e que o tabagismo é um forte determinante para aumento na homocisteinemia. O uso do tabaco também é relacionado aos baixos níveis plasmáticos de folato e vitamina B₁₂ (ARAKI et al., 1989; NYGARD et al., 1995; DE CHIARA et al., 2012; ZHONG et al., 2013).

Níveis elevados de homocisteína apresentaram-se como o fator de risco cardiovascular mais comum em pacientes com insuficiência renal crônica. Os estágios finais dessa doença, bem como os eventos cardiovasculares fatais e não fatais, apresentam relação positiva com a hiperhomocisteinemia. Um estudo demonstrou que a homocisteína representa um fator de risco semelhante ao colesterol, hipertensão arterial e tabagismo, sendo um fator de risco independente dos fatores convencionais. A combinação entre os fatores hipertensão, tabagismo e homocisteína apresentou adição ao poder preditivo cardiovascular, sendo mais efetiva para mulheres que para homens (WILCKEN; GUPTA, 1979; CASTELLI, 1996).

Em detrimento de muitos estudos que apontam a homocisteína como forte e independente fator de risco cardiovascular, alguns dados epidemiológicos da literatura mostram evidências de um baixo poder preditivo por parte desse fator. Uma meta-análise concluiu que níveis de homocisteína 25% mais baixos estão associados com redução do risco de doença cardíaca coronariana em aproximadamente 11% apenas. Isso indica um poder preditivo cardiovascular bem mais reduzido que antes estimado. Dados adquiridos de ensaios do *Framingham Study* informaram que níveis de homocisteína apresentam uma modesta associação com insuficiência cardíaca congestiva em adultos sem infarto do miocárdio prévio. O ensaio *Heart Outcomes Prevention Evaluation* acompanhou 5.522 pacientes em um período de aproximadamente 5 anos em tratamento com folato, vitamina B₆ e vitamina B₁₂ e concluiu que não houve benefícios cardiovasculares em relação ao grupo controle (LONN et al., 2006).

Em meio a resultados controversos, parece unânime que a homocisteína apresenta-se como um fator de risco forte e independente para pacientes com insuficiência renal, aterosclerose prematura ou história familiar de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral quando jovens.

5.3 FIBRINOGÊNIO

Dados de variados estudos epidemiológicos realizados em diversas populações demonstram uma forte associação entre níveis plasmáticos de fibrinogênio e doenças cardiovasculares. Os níveis de fibrinogênio correlacionaram-se positivamente com fatores de risco cardiovasculares estabelecidos como idade, tabagismo, níveis séricos de colesterol total e colesterol LDL, triglicerídeos plasmáticos, pressão arterial sistêmica, índice de massa corporal, história familiar de diabetes e proteína-C reativa. Existe uma relação linear entre fibrinogênio e o risco de doença arterial coronariana fatal e não fatal, acidente vascular cerebral fatal e não fatal, mortalidade de natureza vascular não relacionada ao DAC e AVC, e mortalidade não vascular (JUHANVAGUE; THOMPSON; JESPERSEN, 1993; WATTANAKIT et al., 2005).

O fibrinogênio plasmático elevado, 1,76 para o homem e 1,54 para mulher, é um forte e independente fator de risco para infarto do miocárdio e morte súbita em indivíduos acometidos de doença arterial coronariana pré-diagnosticada, e um fator preditivo para o desenvolvimento dessa doença em indivíduos saudáveis. A atuação bioquímica do fibrinogênio enquanto fator causador do processo aterosclerótico ou fator produzido pela lesão aterosclerótica ainda não está plenamente determinada (JUHANVAGUE; THOMPSON; JESPERSEN, 1993; WATTANAKIT et al., 2005).

No *Northwick Park Heart Study*, a avaliação da associação entre a medida do fibrinogênio e o infarto do miocárdio fatal e não fatal demonstrou que aproximadamente metade dos eventos coronarianos ocorreu no tercil superior dos níveis do fibrinogênio plasmático. Este estudo ocorreu mediante um tempo de acompanhamento dos participantes de 10 anos e evidenciou o fibrinogênio como fator de risco independente de outros biomarcadores cardiovasculares. Outro estudo

demonstrou que níveis de fibrinogênio foram maiores em indivíduos com angina instável que em indivíduos com angina estável (UMEMOTO et al., 2000).

O *Angina Prognosis Study* apontou o fibrinogênio como um fator preditivo para morte por doença arterial coronariana e infarto do miocárdio não fatal. Dados mostram que pacientes previamente acometidos de infarto do miocárdio, angina e doença arterial periférica apresentam níveis séricos de fibrinogênio consideravelmente mais elevados que indivíduos sem doenças cardiovasculares evidentes. Uma meta-análise indicou que a associação entre os níveis de fibrinogênio em pacientes com acidente vascular cerebral ou doença cardíaca coronariana não diferem consideravelmente dos níveis de fatores de risco estabelecidos como sexo, tabagismo, pressão arterial sistêmica e lipídeos séricos (DANESH et al., 2005).

5.4 DÍMERO-D

Dados epidemiológicos demonstram associações variadas entre os níveis do dímero-D e doenças cardiovasculares. Em um estudo prospectivo com 5.201 homens e mulheres acima de 64 anos, os níveis de dímero-D apresentaram valor preditivo independente para infarto do miocárdio. O dímero-D também se apresentou como fator preditivo para morte por evento cardiovascular em um estudo realizado em idosos com sintomas de insuficiência cardíaca. Corroborando com esses dados, o *Multiethnic Study of Atherosclerosis*, que envolveu 6.391 pacientes de 45 a 84 anos, demonstrou que aumento nos valores do dímero-D apresentou valor preditivo para morte por evento cardiovascular (CUSHMAN et al., 1999; ALEHAGEN; DAHLSTROM; LINDAHL, 2004; FOLSOM et al., 2009).

No *The Caerphilly Study*, 2.398 homens com idade entre 45 e 65 anos foram acompanhados durante um período médio de treze anos resultando na indicação do dímero-D como fator preditivo para doença coronariana e AVC isquêmico. Um estudo prospectivo envolvendo 75.343 mulheres após a menopausa e sem doenças cardiovasculares aparentes ou câncer, apontou o dímero-D como fator de risco para eventos coronarianos (PRADHAN et al., 2004; SMITH et al., 2005).

Os dados concernentes ao valor preditivo cardiovascular do dímero-D apresentam controvérsias. Dados obtidos a partir da análise de 3.209 participantes do *Framingham study* indicaram que níveis plasmáticos do dímero-D não apresentaram poder preditivo para eventos cardiovasculares adversos. Em um estudo prospectivo, o dímero-D não apresentou associação com o desenvolvimento de doença arterial coronariana em participantes do sexo feminino entre 60 e 70 anos (WANG et al., 2006; MAY et al., 2007).

Estudos prospectivos que abordaram vários biomarcadores cardiovasculares evidenciaram que o dímero-D não adicionou poder preditivo para diagnóstico de síndrome coronariana aguda, nem apresentou melhoramento no poder prognóstico aos fatores de risco tradicionais. (BRUGGER-ANDERSEN et al., 2008; MCCANN et al., 2009).

5.5 LIPOPROTEÍNA(A)

A atuação fisiopatológica da lipoproteína(a) enquanto fator de risco cardiovascular foi alicerçada nos anos 1980. Desde então, estudos epidemiológicos apontam a Lp(a) como fator de risco preditivo independente de doença arterial coronariana e infarto do miocárdio. Uma meta-análise demonstrou que a medida plasmática de Lp(a) pode ser considerada como fator de risco para doenças cardiovasculares (RADER; HOEG; BREWER, 1994; SCHAEFER et al., 1994; DANESH; COLLINS; PETO, 2000).

Os resultados do *PRIME Study* mostraram que pacientes sem história de doença cardíaca coronariana que possuíam níveis plasmáticos elevados de Lp(a) maiores que 30 mg/dL apresentaram riscos de eventos cardiovasculares futuros maiores que indivíduos que possuíam esses níveis menores que 30 mg/dL. Um estudo demonstrou que 67% dos pacientes que apresentaram rápida progressão da doença arterial coronariana possuíam níveis séricos de Lp(a) maiores ou iguais a 25 mg/dL, entretanto, apenas 33% dos pacientes sem progressão da doença arterial coronariana apresentaram esses níveis elevados. Dados informam que a concentração sérica de Lp(a) em homens de meia idade constitui um fator de risco

independente para infarto do miocárdio ou doença cardíaca coronariana (ROSENGREN et al., 1990; DANESH; COLLINS; PETO, 2000).

Apesar de muitos estudos apontarem a Lp(a) como forte fator de risco cardiovascular, alguns dados evidenciaram uma fraca associação entre Lp(a) e risco de eventos trombóticos, sugerindo que a Lp(a) não atua como um fator de risco para futuros eventos cardíacos adversos (MARCUCCI et al., 2006).

Um estudo conduzido com 5.732 idosos acompanhados por um período de aproximadamente três anos e dois meses indicou uma fraca associação entre Lp(a) e risco de eventos cardiovasculares. Outros estudos, entretanto, apontaram os níveis plasmáticos de Lp(a) como fator preditivo para eventos trombóticos arteriais oclusivos. Pacientes com doença coronariana prévia apresentaram níveis plasmáticos de Lp(a) consideravelmente mais elevados que indivíduos normais. A Lp(a), quando em níveis séricos elevados, apresentou-se como marcador preditivo para eventos cardiovasculares recorrentes e apresentou associação com oclusão da carótida, presença e severidade de estenose coronariana e obstrução coronariana. Uma meta-análise que reuniu dados de 127.000 indivíduos encontrou uma associação independente e moderada entre concentração plasmática de Lp(a) e risco de doença coronariana e acidente vascular cerebral (GAW et al., 2005; ERQOU et al., 2009; SAGASTAGOITIA et al., 2009).

A maioria dos estudos epidemiológicos desenhados para estabelecer associação entre Lp(a) e risco de eventos cardiovasculares adversos encontrou relação positiva entre esse fator de risco e a presença e severidade de doenças cardiovasculares. Os níveis de Lp(a) diferem entre grupos étnicos e suas medidas podem ser úteis para pacientes com história de doenças cardiovasculares e para pacientes com risco cardiovascular intermediário relativo (MILIONIS; WINDER; MIKHAILIDIS, 2000).

Níveis plasmáticos de Lp(a) oxidada apresentou associação com o diagnóstico positivo e a severidade da síndrome coronariana aguda. Um estudo estabeleceu uma correlação positiva entre níveis de Lp(a) e infarto agudo do miocárdio através da dimensão da área necrótica e do dano tecidual conforme aumento da Lp(a). Esses dados evidenciaram um potencial papel aterogênico e trombogênico desse biomarcador, bem como um poder intrínseco de prever danos vasculares agudos (MOTTA et al., 2001; WANG et al., 2009).

De maneira geral, os dados disponíveis na literatura apresentam controvérsias para a Lp(a) enquanto biomarcador cardiovascular. Alguns estudos indicam que níveis séricos de Lp(a) não apresentam relação com aterosclerose. Em contrapartida, vários estudos indicam a Lp(a) como um importante fator de risco cardiovascular para a presença de aterosclerose e progressão da doença arterial coronariana. (MAHER et al., 1995; PATSCH; GOTTO, 1996; STEIN; ROSENSON, 1997).

5.6 FOSFOLIPASE A₂ ASSOCIADA A LIPOPROTEÍNAS

Muitos estudos epidemiológicos apontam uma associação positiva entre níveis séricos de Lp-PLA₂ e eventos coronarianos em pacientes sem prévia história de doenças cardiovasculares. Os dados indicam a existência de uma correlação entre os níveis de Lp-PLA₂ e os fatores de risco tradicionais como idade, colesterol, LDL, colesterol HDL, razão LDL/HDL, colesterol total, triglicerídeos, obesidade e síndrome metabólica. Foi atribuído à Lp-PLA₂ uma propriedade de biomarcador preditivo para acidente vascular cerebral e eventos isquêmicos. Os estudos alcançaram populações heterogêneas incluindo homens, mulheres, pacientes de meia idade, idosos, diabéticos, pacientes com síndrome metabólica, brancos e asiáticos (BALLANTYNE et al., 2004; KOENIG et al., 2004; WINKLER et al., 2004; PERSSON; HEDBLAD et al., 2007; PERSSON; NILSSON, et al., 2007; ANDERSON, 2008; DANIELS et al., 2008; PERSSON et al., 2008; HOU et al., 2009; TSIMIKAS et al., 2009; HATOUM et al., 2010).

No *Rotterdam Study*, uma população de homens e mulheres acima de 55 anos foram identificados 110 casos de acidente vascular cerebral isquêmico onde o risco do evento apresentou acréscimo para cada quartil de Lp-PLA₂ plasmático aumentado. O estudo *The West of Scotland Coronary Prevention Study – WOSCOPS*, o primeiro que evidenciou a Lp-PLA₂ como um fator preditivo para doenças cardiovasculares, apontou que o aumento nos níveis basais de Lp-PLA₂ foram associados com eventos cardiovasculares. Quando ajustados com os fatores de risco tradicionais e outros marcadores inflamatórios, a relação continuou significativa (PACKARD et al., 1998).

A associação entre eventos cardiovasculares adversos e a concentração e atividade da Lp-LPA₂ foram estudadas no *Lp-PLA₂ Studies Collaboration* onde 32 estudos prospectivos com 79.036 indivíduos foram reunidos. De forma geral, o risco para doença arterial coronariana e acidente vascular cerebral aumentaram progressivamente com a atividade e concentração de Lp-PLA₂ para ensaios ajustados para idade, sexo, história de doença vascular, fatores de risco lipídicos e não lipídicos. A associação entre a atividade de Lp-PLA₂ e doença arterial coronariana foi significativa apenas para pacientes com doença arterial coronariana estável, porém não houve significância em relação a indivíduos sem história de doença arterial coronariana. A massa da Lp-PLA₂ apresentou valores preditivos para eventos coronarianos para os grupos testados (THOMPSON et al., 2010).

5.7 APOLIPOPROTEÍNA A-I / APOLIPOPROTEÍNA B

As concentrações plasmáticas de apoA-I, apoB e a razão apoB/apoA-I foram considerados fortes marcadores preditivos para doenças cardiovasculares, morbidade e mortalidade por muitos estudos epidemiológicos. Além disso, o valor preditivo dos níveis dessas apolipoproteínas supera, em determinados parâmetros, aquele dos índices lipídicos tradicionais como o colesterol LDL. Uma vez que a apoB está associada às partículas potencialmente aterogênicas e a apoA-I associa-se à partícula antiaterogênica, as medidas das apolipoproteínas refletem com mais fidelidade o risco para doença arterial coronariana que os índices lipídicos tradicionais (ELOVSON et al., 1988; CHAN; WATTS, 2006).

Dados do *Quebec Cardiovascular Study*, divulgados em 1996, apontaram a forte associação da apoB com a origem de doença arterial coronariana. Esse estudo acompanhou 2.155 homens de 45 a 76 anos por um período de cinco anos e evidenciou a apoB como fator de risco independente relativo à eventos coronarianos (LAMARCHE et al., 1996).

O importante estudo prospectivo sueco *Apolipoprotein-related Mortality Risk – AMORIS* iniciado em 1985, envolveu 98.722 homens e 76.831 mulheres e teve como um dos objetivos determinar se a razão apoB/apoA-I apresenta poder preditivo superior aos lipídeos convencionais, lipoproteínas e razões de colesterol. Dados

desse estudo demonstram a apoB como fator de risco cardiovascular superior ao colesterol LDL em todos os níveis, principalmente em indivíduos com níveis de LDLc normais ou baixos. Uma abordagem dentro desse estudo envolvendo 864 homens e 569 mulheres que sofreram infarto do miocárdio fatal no período de aproximadamente 67 meses, relacionou infarto do miocárdio fatal e vários fatores de risco e demonstrou uma associação positiva entre apoB e risco de morte. Nesta abordagem, apoA-I apresentou-se cardioprotetora e todas as relações foram importantes e válidas para ambos os sexos. Uma análise de 2.213 infartos do miocárdio fatais em 1.474 indivíduos masculinos e 729 femininos apontou a razão apoB/apoA-I como o fator de risco isolado mais efetivo (WALLDIUS et al., 2001; WALLDIUS et al., 2004).

A razão apoB/apoA-I apresentou valor preditivo de risco cardiovascular mais forte que as razões TC/HDLc, LDLc/HDLc e colesterol não-HDL/HDLc. Altos valores de apoB e baixos valores de apoA-I foram significativamente associados ao risco de acidente vascular cerebral. Todos os tipos de AVC analisados, incluindo o AVC subaracnoideo e o AVC hemorrágico apresentaram baixos níveis de apoA-I como variável comum. A razão apoB/apoA-I apresentaram importante correlação com AVC, porém, com precisão inferior aquela demonstrada em relação ao infarto do miocárdio (WALLDIUS; AASTVEIT; JUNGNER, 2004; WALLDIUS; AASTVEIT; JUNGNER, 2006)

O estudo *INTERHEART* investigou as taxas de doenças cardiovasculares e suas relações com os fatores de risco em 52 países envolvendo 15.152 pacientes com infarto agudo do miocárdio e 14.820 indivíduos no grupo controle. A razão apoB/apoA-I foi apontada como fator de risco mais efetivo que fatores convencionais como hipertensão, diabetes, tabagismo, etilismo, estresse, obesidade abdominal e sedentarismo. Os resultados apresentaram valores significativos independentes de idade, sexo e etnia (YUSUF; HAWKEN; OUNPUU, 2004).

5.8 PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS

As medições dos peptídeos natriuréticos têm sido progressivamente utilizadas no diagnóstico de algumas DCVs. Ensaios de BNP ou NTproBNP são utilizados na

clínica para diagnóstico ou suspeita de eventos como insuficiência cardíaca, disfunção assintomática do ventrículo esquerdo e isquemia cardíaca (MORROW et al., 2007).

A utilização clínica dos peptídeos natriuréticos é sugerida para indivíduos com alta carga de doença coronariana e indivíduos propensos a episódios subclínicos de ruptura de placa. Os níveis desses biomarcadores foram descritos como aumentados progressivamente com o aumento do número artérias coronarianas acometidas, possivelmente refletindo a expressão e liberação dos peptídeos natriuréticos durante isquemia miocárdica. Uma vez que peptídeos natriuréticos são liberados diretamente de cardiomiócitos em resposta à isquemia cardíaca, estudos sugerem que seus níveis plasmáticos apresentam relevância na predição de subsequentes eventos cardiovasculares diferentes da insuficiência cardíaca (HAMA et al., 1995; KRAGELUND et al., 2005).

Muito embora níveis elevados de NT-proBNP estejam relacionados com insuficiência cardíaca, estudos evidenciam a associação desse fator de risco com outras formas de doenças cardiovasculares, entre elas, a síndrome coronariana aguda. Pacientes com doença arterial coronariana associada ao infarto agudo do miocárdio apresentam elevados níveis de NT-proBNP (ZELLER et al., 2004; NICHOLLS; FRAMPTON; YANDLE, 2008).

Evidências indicam que os peptídeos natriuréticos não constituem biomarcadores eficientes no diagnóstico da angina instável, uma vez que os indivíduos testados apresentaram níveis predominantemente normais. Um estudo envolvendo 987 pacientes indicou que NT-proBNP constituiu um fator preditivo independente para morbidade e mortalidade cardiovascular relacionadas à função ventricular, capacidade física e isquemia induzida, mesmo após consideração de fatores de risco tradicionais (MORROW et al., 2005; BIBBINS-DOMINGO et al., 2007).

Os peptídeos natriuréticos apresentam relação positiva com a doença vascular periférica. Dados demonstram níveis elevados de NT-proBNP em indivíduos com essas doenças cardiovasculares.

5.9 MIELOPEROXIDASE

Dados clínicos e epidemiológicos demonstram um aumento dos níveis da mieloperoxidase plasmática em pacientes com doença arterial coronariana diagnosticada, em comparação a indivíduos saudáveis. A medida da MPO plasmática também apresenta associação com quadros clínicos referentes à mortalidade em longo prazo, severidade da doença cardiovascular e primeiro infarto do miocárdio nos pacientes com doença arterial coronariana. (MOCATTA et al., 2007; NDREPEPA et al., 2008).

Além da predição de um quadro clínico adverso e de progressão da doença coronariana estável ou aguda em pacientes pré-diagnosticados, a MPO apresenta valor preditivo para indivíduos aparentemente saudáveis e indivíduos comprovadamente isentos de DAC. Os níveis de MPO apresentaram correlação positiva com o grau de deposição de cálcio na artéria coronariana detectado via tomografia computadorizada em indivíduos assintomáticos (MEUWESE et al., 2007; WONG et al., 2009).

A enzima mieloperoxidase e seus produtos de oxidação foram identificados em lesões ateroscleróticas humanas por ensaios bioquímicos e imunohistoquímicos. Desta forma, muitos estudos evidenciam um papel aterogênico para MPO. Indivíduos com deficiência total ou parcial de MPO, bem como indivíduos que possuem um polimorfismo associado à expressão da MPO reduzida pela metade, apresentam aparente cardioproteção evidenciada por ensaios angiográficos de DAC, reduzidos infartos do miocárdio não fatais e morte por eventos cardíacos (BERGT et al., 2004; CAYLEY, 2004).

Desta forma, vários estudos bioquímicos, genéticos e epidemiológicos em humanos, demonstram uma importante correlação positiva entre níveis de MPO e risco de doenças cardiovasculares.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos devem ser direcionados no sentido de aumentar o poder preditivo dos fatores de risco tradicionais, uma vez que grande parte dos eventos cardiovasculares adversos ocorrem sem prévia detecção desses marcadores, acarretando grandes prejuízos em saúde.

Embora muitos avanços tenham ocorrido acerca da elucidação dos mecanismos fisiopatológicos da aterosclerose, muito ainda deve ser explorado no sentido de identificar novos biomarcadores. Da mesma forma, novas pesquisas devem objetivar o pleno conhecimento da atuação dos biomarcadores conhecidos, possibilitando a determinação do real valor preditivo de cada um deles.

O estresse oxidativo, o perfil das respostas imunológicas e outros fatores influem concomitantemente no processo aterosclerótico. Assim faz-se necessário estabelecer interligação entre linhas de pesquisas diversas destinadas à resolução desse problema multifatorial.

Dados epidemiológicos de populações diversas devem ser levantados e processados com o objetivo de prover melhoramento na utilização dos fatores de risco já existentes. Novos biomarcadores devem ser epidemiologicamente apontados como importantes e efetivos na prevenção e diagnóstico de eventos cardiovasculares, sendo necessário, para isso, grande número de dados estatísticos.

Programas de prevenção de doenças cardiovasculares devem ser implementados segundo a necessidade epidemiológica de cada população. Os programas já existentes devem ser melhorados para que a população participe ativamente em busca da diminuição dos danos em saúde causados pelas doenças cardiovasculares.

REFERÊNCIAS

ABURAYA, M. et al. DISTRIBUTION AND MOLECULAR-FORMS OF BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE IN THE CENTRAL NERVOUS-SYSTEM, HEART AND PERIPHERAL TISSUE OF RAT. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 165, n. 2, p. 880-887, Dec 1989. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1989CD84400048 >.

AGRAWAL, A. et al. Transactivation of c-reactive protein by IL-6 requires synergistic interaction of CCAAT/enhancer finding protein beta (C/EBP beta) and Rel p50. **Journal of Immunology**, v. 166, n. 4, p. 2378-2384, Feb 2001. ISSN 0022-1767. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000166882000030 >.

AKASAKA, K. et al. Homocysteine promotes p38-dependent chemotaxis in bovine aortic smooth muscle cells. **Journal of Vascular Surgery**, v. 41, n. 3, p. 517-522, Mar 2005. ISSN 0741-5214. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000228172100025 >.

ALEHAGEN, U.; DAHLSTROM, U.; LINDAHL, T. L. Elevated D-dimer level is an independent risk factor for cardiovascular death in out-patients with symptoms compatible with heart failure. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 92, n. 6, p. 1250-1258, Dec 2004. ISSN 0340-6245. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000225793000014 >.

ANDERSON, J. L. Lipoprotein-associated phospholipase A(2): An independent predictor of coronary artery disease events in primary and secondary prevention. **American Journal of Cardiology**, v. 101, n. 12A, p. 23F-33F, Jun 2008. ISSN 0002-9149. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000256819200004 >.

ARAKI, A. et al. PLASMA SULFHYDRYL-CONTAINING AMINO-ACIDS IN PATIENTS WITH CEREBRAL INFARCTION AND IN HYPERTENSIVE SUBJECTS. **Atherosclerosis**, v. 79, n. 2-3, p. 139-146, Oct 1989. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1989AV13700005 >.

ATKINSON, A. J. et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework*. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 69, n. 3, p. 89-95, 2001. ISSN 0009-9236.

BALLANTYNE, C. M. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. **Circulation**, v. 109, n. 7, p. 837-842, 2004. ISSN 0009-7322.

BARTER, P. J.; RYE, K. A. The rationale for using apoA-I as a clinical marker of cardiovascular risk. **Journal of Internal Medicine**, v. 259, n. 5, p. 447-454, May 2006. ISSN 0954-6820. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237018900003 >.

BENITEZ, S. et al. Increased lysophosphatidylcholine and non-esterified fatty acid content in LDL induces chemokine release in endothelial cells relationship with electronegative LDL. **Atherosclerosis**, v. 177, n. 2, p. 299-305, Dec 2004. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000225985600010 >.

BERG, K. A NEW SERUM TYPE SYSTEM IN MAN - LP SYSTEM. **Acta Pathologica Et Microbiologica Scandinavica**, v. 59, n. 3, p. 369-&, 1963. ISSN 0001-6624. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A19632017A00001 >.

BERGT, C. et al. The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 35, p. 13032-13037, Aug 2004. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000223694700047 >.

BIBBINS-DOMINGO, K. et al. N-terminal fragment of the prohormone brain-type natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiovascular events, and mortality in patients with stable coronary heart disease. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 297, n. 2, p. 169-176, Jan 10 2007. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000243355900026 >.

BLACK, S.; KUSHNER, I.; SAMOLS, D. C-reactive protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 47, p. 48487-48490, 2004. ISSN 0021-9258.

BRUGGER-ANDERSEN, T. et al. The prognostic utility of D-dimer and fibrin monomer at long-term follow-up after hospitalization with coronary chest pain. **Blood Coagulation & Fibrinolysis**, v. 19, n. 7, p. 701-707, Oct 2008. ISSN 0957-5235. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000260159300016 >.

BULOW, E. et al. Sorting for storage in myeloid cells of nonmyeloid proteins and chimeras with the propeptide of myeloperoxidase precursor. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 71, n. 2, p. 279-288, Feb 2002. ISSN 0741-5400. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000173810900013 >.

BURKE, J. E.; DENNIS, E. A. Phospholipase A(2) Biochemistry. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 23, n. 1, p. 49-59, Feb 2009. ISSN 0920-3206. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000262587700007 >.

CALABRO, P.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. H. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells.

Circulation, v. 108, n. 16, p. 1930-1932, Oct 2003. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000186055600005 >.

CASTELLI, W. P. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. **Atherosclerosis**, v. 124, p. S1-S9, Jul 1996. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996VA87700001 >.

CAYLEY, W. E. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 5, p. 516-517, Jan 2004. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000188463900020 >.

CHAN, D. C.; WATTS, G. F. Apolipoproteins as markers and managers of coronary risk. **Qjm-an International Journal of Medicine**, v. 99, n. 5, p. 277-287, May 2006. ISSN 1460-2725. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237169900001 >.

CHANG, C. Y. et al. Dual Functionality of Myeloperoxidase in Rotenone-Exposed Brain-Resident Immune Cells. **American Journal of Pathology**, v. 179, n. 2, p. 964-979, Aug 2011. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000298307200041 >.

CHEN, J. W. et al. Intracellular PAF catabolism by PAF acetylhydrolase counteracts continual PAF synthesis. **Journal of Lipid Research**, v. 48, n. 11, p. 2365-2376, Nov 2007. ISSN 0022-2275. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000250148500005 >.

CUSHMAN, M. et al. Fibrinolytic activation markers predict myocardial infarction in the elderly - The cardiovascular health study. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 19, n. 3, p. 493-498, Mar 1999. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000079081200004 >.

DANESH, J.; COLLINS, R.; PETO, R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease - Meta-analysis of prospective studies. **Circulation**, v. 102, n. 10, p. 1082-1085, Sep 2000. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000089157400004 >.

DANESH, J. et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality - An individual participant meta-analysis. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 294, n. 14, p. 1799-1809, Oct 12 2005. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232472000020 >.

_____. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 14, p. 1387-1397, Apr 2004. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000220562500005 >.

DANIELS, L. B. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease in an apparently healthy older population: The Rancho Bernardo study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 51, n. 9, p. 913-919, Mar 2008. ISSN 0735-1097. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000253649100006 >.

DAVIES, M. J. Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 48, n. 1, p. 8-19, Jan 2011. ISSN 0912-0009. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000288981400003 >.

DAWBER, T. R. **The Framingham Study: the epidemiology of atherosclerotic disease**. Harvard university press Cambridge, 1980.

DE BOLD, A. J. et al. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats (Reprinted from Life Sci, vol 28, pg 89-94, 1981). **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 12, n. 2, p. 403-407, Feb 2001. ISSN 1046-6673. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000166716200024 >.

DE CHIARA, B. et al. Plasma Total Cysteine and Cardiovascular Risk Burden: Action and Interaction. **Scientific World Journal**, 2012 2012. ISSN 1537-744X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000303926000001 >.

DERIJKE, Y. B. et al. Enhanced susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in coronary bypass patients with progression of atherosclerosis. **Clinica Chimica Acta**, v. 243, n. 2, p. 137-149, Dec 1995. ISSN 0009-8981. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995TP76500004 >.

DESIDERI, G.; FERRI, C. Endothelial activation. Sliding door to atherosclerosis. **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, n. 17, p. 2163-2175, 2005. ISSN 1381-6128. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000229762900004 >.

DICKSTEIN, K. et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). **European Journal of Heart Failure**, v. 10, n. 10, p. 933-989, Oct 2008. ISSN 1388-9842. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000260749400001 >.

DU CLOS, T. W. Function of C-reactive protein. **Annals of medicine**, v. 32, n. 4, p. 274-278, 2000. ISSN 0785-3890.

DUBE, J. B. et al. Lipoprotein(a): more interesting than ever after 50 years. **Current Opinion in Lipidology**, v. 23, n. 2, p. 133-140, Apr 2012. ISSN 0957-9672. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000301658900009 >.

ELIN, R. J.; WINTER, W. E. Laboratory and clinical aspects of B-type natriuretic peptides. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 128, n. 6, p. 697-699, Jun 2004. ISSN 0003-9985. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000221753000017 >.

ELOVSON, J. et al. PLASMA VERY LOW-DENSITY LIPOPROTEINS CONTAIN A SINGLE MOLECULE OF APOLIPOPROTEIN-B. **Journal of Lipid Research**, v. 29, n. 11, p. 1461-1473, Nov 1988. ISSN 0022-2275. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1988R351900006 >.

ERQOU, S. et al. Lipoprotein(a) Concentration and the Risk of Coronary Heart Disease, Stroke, and Nonvascular Mortality. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 302, n. 4, p. 412-423, Jul 2009. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000268139200024 >.

ERUSALIMSKY, J. D.; MONCADA, S. Nitric oxide and mitochondrial signaling from physiology to pathophysiology. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 27, n. 12, p. 2524-2531, Dec 2007. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000251143300009 >.

FARR, R. S. et al. Preliminary studies of an acid-labile factor (ALF) in human sera that inactivates platelet-activating factor (PAF). **Clinical immunology and immunopathology**, v. 15, n. 3, p. 318-330, 1980. ISSN 0090-1229.

FINKELSTEIN, J. D. METHIONINE METABOLISM IN MAMMALS. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 1, n. 5, p. 228-237, May 1990. ISSN 0955-2863. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1990DD46200001 >.

FOLEY, J. H.; FERRIS, L.; BRUMMEL-ZIEDINS, K. E. Characteristics of Fibrin Formation and Clot Stability in Individuals with Congenital Type IIb Protein C Deficiency. **Thrombosis Research**, v. 129, n. 4, p. E142-E146, Apr 2012. ISSN 0049-3848. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000301587400023 >.

FOLSOM, A. R. et al. Associations of factor VIII(c), D-dimer, and plasmin-antiplasmin with incident cardiovascular disease and all-cause mortality. **American Journal of Hematology**, v. 84, n. 6, p. 349-353, Jun 2009. ISSN 0361-8609. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266570300008 >.

FORSYTH, C. B. et al. Integrin alpha(M)beta(2)-mediated cell migration to fibrinogen and its recognition peptides. **Journal of Experimental Medicine**, v. 193, n. 10, p.

1123-1133, May 21 2001. ISSN 0022-1007. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000169115200003 >.

FRISCHMANN, M. E. et al. In vivo stable-isotope kinetic study suggests intracellular assembly of lipoprotein(a). **Atherosclerosis**, v. 225, n. 2, p. 322-327, Dec 2012. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000311344700032 >.

FU, L. et al. Gene expression of apolipoprotein(a) within the wall of human aorta and carotid arteries. **Atherosclerosis**, v. 158, n. 2, p. 303-311, Oct 2001. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000171741400006 >.

FURTMULLER, P. G. et al. Active site structure and catalytic mechanisms of human peroxidases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 445, n. 2, p. 199-213, Jan 2006. ISSN 0003-9861. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000234961500002 >.

GAW, A. et al. Plasma lipoprotein(a) Lp(a) concentrations and cardiovascular events in the elderly: evidence from the prospective study of pravastatin in the elderly at risk (PROSPER). **Atherosclerosis**, v. 180, n. 2, p. 381-388, Jun 2005. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000229992600021 >.

GUMIERO, A. et al. Nature of the Ferryl Heme in Compounds I and II. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 2, p. 1260-1268, Jan 2011. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000286005000037 >.

GÓMEZ, M. et al. Oxidized LDL, Lipoprotein (a), and Other Emergent Risk Factors in Acute Myocardial Infarction (FORTIAM Study). **Revista Española de Cardiología (English Edition)**, v. 62, n. 4, p. 373-382, 2009. ISSN 1885-5857.

HAGIWARA, S. et al. Usefulness of fibrin degradation products and d-dimer levels as biomarkers that reflect the severity of trauma. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, v. 74, n. 5, p. 1275-1278, May 2013. ISSN 2163-0755. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000319316600020 >.

HAMA, N. et al. RAPID VENTRICULAR INDUCTION OF BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE GENE-EXPRESSION IN EXPERIMENTAL ACUTE MYOCARDIAL-INFARCTION. **Circulation**, v. 92, n. 6, p. 1558-1564, Sep 15 1995. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995RU67200029 >.

HANCOCK, M. A. et al. Inhibition of plasminogen activation by lipoprotein(a) - Critical domains in apolipoprotein(a) and mechanism of inhibition on fibrin and degraded fibrin surfaces. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 26, p. 23260-23269, Jun 2003. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000183638600008 >.

HARRIS, P. J.; THOMAS, D.; MORGAN, T. O. ATRIAL-NATRIURETIC-PEPTIDE INHIBITS ANGIOTENSIN-STIMULATED PROXIMAL TUBULAR SODIUM AND WATER REABSORPTION. **Nature**, v. 326, n. 6114, p. 697-698, Apr 1987. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1987G890600060 >.

HATOUM, I. J. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and incident coronary heart disease among men and women with type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 59, n. 5, p. 1239-1243, 2010. ISSN 0012-1797.

HAZELL, L. J.; STOCKER, R. OXIDATION OF LOW-DENSITY-LIPOPROTEIN WITH HYPOCHLORITE CAUSES TRANSFORMATION OF THE LIPOPROTEIN INTO A HIGH-UPTAKE FORM FOR MACROPHAGES. **Biochemical Journal**, v. 290, p. 165-172, Feb 1993. ISSN 0264-6021. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1993KN69400023 >.

HAZEN, S. L. et al. Formation of nitric oxide-derived oxidants by myeloperoxidase in monocytes - Pathways for monocyte-mediated protein nitration and lipid peroxidation in vivo. **Circulation Research**, v. 85, n. 10, p. 950-958, Nov 1999. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000083687400011 >.

HEINRICH, P. C. et al. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. **Biochemical Journal**, v. 334, p. 297-314, Sep 1998. ISSN 0264-6021. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000076112400001 >.

HENSCHEN, A. et al. COVALENT STRUCTURE OF FIBRINOGEN. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 408, n. JUN, p. 28-43, 1983. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1983RA72400003 >.

HERRICK, S. et al. Fibrinogen. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 31, n. 7, p. 741-746, Jul 1999. ISSN 1357-2725. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000082085100002 >.

HOFF, H. F.; ONEIL, J.; YASHIRO, A. PARTIAL CHARACTERIZATION OF LIPOPROTEINS CONTAINING APO A IN HUMAN ATHEROSCLEROTIC LESIONS. **Journal of Lipid Research**, v. 34, n. 5, p. 789-798, May 1993. ISSN 0022-2275. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1993LD27900009 >.

HOU, L. P. et al. Associations of PLA2G7 gene polymorphisms with plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and coronary heart disease in a Chinese Han population: the Beijing atherosclerosis study. **Human Genetics**, v. 125, n. 1, p. 11-20, Feb 2009. ISSN 0340-6717. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000262567400002 >.

HUNT. 2009 Focused Update Incorporated Into the ACC/AHA 2005 Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (vol 119, pg e391, 2009). **Circulation**, v. 121, n. 12, p. E258-E258, Mar 2010. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000276084400019 >.

HUNT, P. J. et al. THE AMINO-TERMINAL PORTION OF PRO-BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE (PRO-BNP) CIRCULATES IN HUMAN PLASMA. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 214, n. 3, p. 1175-1183, Sep 1995. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995RW55600061 >.

INGRAM, A. J. et al. Activation of mesangial cell MAPK in response to homocysteine. **Kidney International**, v. 66, n. 2, p. 733-745, Aug 2004. ISSN 0085-2538. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000222578400037 >.

JABS, W. J. et al. The kidney as a second site of human C-reactive protein formation in vivo. **European Journal of Immunology**, v. 33, n. 1, p. 152-161, Jan 2003. ISSN 0014-2980. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000180623100019 >.

JACKSON, R. et al. QRISK or Framingham for predicting cardiovascular risk? **British Medical Journal**, v. 339, Jul 2009. ISSN 0959-8146. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000267898200005 >.

JAMALUDDIN, M. S. et al. Homocysteine inhibits endothelial cell growth via DNA hypomethylation of the cyclin A gene. **Blood**, v. 110, n. 10, p. 3648-3655, Nov 2007. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000250946300031 >.

JANTSCHKO, W. et al. Kinetics of oxygen binding to ferrous myeloperoxidase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 426, n. 1, p. 91-97, Jun 2004. ISSN 0003-9861. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000221457000011 >.

JIALAL, I.; DEVARAJ, S.; VENUGOPAL, S. K. C-reactive protein: Risk marker or mediator in atherothrombosis? **Hypertension**, v. 44, n. 1, p. 6-11, Jul 2004. ISSN 0194-911X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000222562000002 >.

JIANG, C. T. et al. Homocysteine promotes vascular smooth muscle cell migration by induction of the adipokine resistin. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 297, n. 6, p. C1466-C1476, Dec 2009. ISSN 0363-6143. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000272156100016 >.

JUHANVAGUE, I.; THOMPSON, S. G.; JESPERSEN, J. INVOLVEMENT OF THE HEMOSTATIC SYSTEM IN THE INSULIN-RESISTANCE SYNDROME - A STUDY

OF 1500 PATIENTS WITH ANGINA-PECTORIS. **Arteriosclerosis and Thrombosis**, v. 13, n. 12, p. 1865-1873, Dec 1993. ISSN 1049-8834. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1993MK85200019 >.

KALANI, A. et al. Synergy of Homocysteine, MicroRNA, and Epigenetics: A Novel Therapeutic Approach for Stroke. **Molecular Neurobiology**, v. 48, n. 1, p. 157-168, Aug 2013. ISSN 0893-7648. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000322138900015 >

KAMANNA, V. S.; GANJI, S. H.; KASHYAP, M. L. Recent advances in niacin and lipid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, v. 24, n. 3, p. 239-245, Jun 2013. ISSN 0957-9672. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000319446300009 >.

KETTLE, A. J.; WINTERBOURN, C. C. SUPEROXIDE MODULATES THE ACTIVITY OF MYELOPEROXIDASE AND OPTIMIZES THE PRODUCTION OF HYPOCHLOROUS ACID. **Biochemical Journal**, v. 252, n. 2, p. 529-536, Jun 1988. ISSN 0264-6021. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1988N652400031 >.

KOENIG, W. et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Adds to Risk Prediction of Incident Coronary Events by C-Reactive Protein in Apparently Healthy Middle-Aged Men From the General Population Results From the 14-Year Follow-Up of a Large Cohort From Southern Germany. **Circulation**, v. 110, n. 14, p. 1903-1908, 2004. ISSN 0009-7322.

KRAGELUND, C. et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 7, p. 666-675, Feb 2005. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227031100005 >.

KRISHNA, S. M. et al. The potential role of homocysteine mediated DNA methylation and associated epigenetic changes in abdominal aortic aneurysm formation. **Atherosclerosis**, v. 228, n. 2, p. 295-305, Jun 2013. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000319037200002 >.

KRUPINSKI, J. et al. Endogenous expression of C-reactive protein is increased in active (ulcerated noncomplicated) human carotid artery plaques. **Stroke**, v. 37, n. 5, p. 1200-1204, May 2006. ISSN 0039-2499. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237053900023 >.

LAMARCHE, B. et al. Apolipoprotein A-I and B levels and the risk of ischemic heart disease during a five-year follow-up of men in the Quebec cardiovascular study. **Circulation**, v. 94, n. 3, p. 273-278, Aug 1996. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UZ05100011 >.

LANG, D. et al. Homocysteine-induced inhibition of endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta - Role for superoxide anions. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 20, n. 2, p. 422-427, Feb 2000. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000085179200020 >.

LAWN, R. M. et al. ATHEROGENESIS IN TRANSGENIC MICE EXPRESSING HUMAN APOLIPOPROTEIN(A). **Nature**, v. 360, n. 6405, p. 670-672, Dec 1992. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1992KD08200054 >.

LEFKOWITZ, D. L.; LEFKOWITZ, S. S. Microglia and myeloperoxidase: A deadly partnership in neurodegenerative disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 45, n. 5, p. 726-731, Sep 2008. ISSN 0891-5849. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000258995200022 >.

LEFKOWITZ, D. L. et al. The endothelium and cytokine secretion: The role of peroxidases as immunoregulators. **Cellular Immunology**, v. 202, n. 1, p. 23-30, May 2000. ISSN 0008-8749. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000088051200004 >.

LIBBY, P. Inflammation in Atherosclerosis. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 32, n. 9, p. 2045-2051, Sep 2012. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000307773100005 >.

LIPPI, G.; TARGHER, G. Optimal therapy for reduction of lipoprotein(a). **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 37, n. 1, p. 1-3, Feb 2012. ISSN 0269-4727. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000299549500001 >.

LIU, L. et al. Apolipoprotein(a) stimulates vascular endothelial cell growth and migration and signals through integrin alpha V beta 3. **Biochemical Journal**, v. 418, p. 325-336, Mar 2009. ISSN 0264-6021. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000263778200009 >.

LIU, X. et al. Proteomic analysis of homocysteine induced proliferation of cultured neonatal rat vascular smooth muscle cells. **Biochimica Et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics**, v. 1794, n. 2, p. 177-184, Feb 2009. ISSN 1570-9639. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000262952600003 >.

LOHMANN, S. M. et al. Distinct and specific functions of cGMP-dependent protein kinases. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 22, n. 8, p. 307-312, Aug 1997. ISSN 0968-0004. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XR12800011 >.

LOMINADZE, D.; DEAN, W. L. Involvement of fibrinogen specific binding in erythrocyte aggregation. **Febs Letters**, v. 517, n. 1-3, p. 41-44, Apr 24 2002. ISSN 0014-5793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000175225600009 >.

LONN, E. et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. **New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 15, p. 1567-1577, Apr 2006. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000236736900005 >.

LOU, X. J. et al. Fibrinogen deficiency reduces vascular accumulation of apolipoprotein(a) and development of atherosclerosis in apolipoprotein(a) transgenic mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 21, p. 12591-12595, Oct 13 1998. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000076447900092 >.

LOWE, D. G. et al. Human atrial natriuretic peptide receptor defines a new paradigm for second messenger signal transduction. **The EMBO journal**, v. 8, n. 5, p. 1377, 1989.

MA, X.; JI, S. R.; WU, Y. Regulated conformation changes in C-reactive protein orchestrate its role in atherogenesis. **Chinese Science Bulletin**, v. 58, n. 14, p. 1642-1649, May 2013. ISSN 1001-6538. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000318527900004 >.

MAHER, V. M. G. et al. EFFECTS OF LOWERING ELEVATED LDL CHOLESTEROL ON THE CARDIOVASCULAR RISK OF LIPOPROTEIN(A). **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 274, n. 22, p. 1771-1774, Dec 1995. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995TJ22500026 >.

MARCOVINA, S.; PACKARD, C. J. Measurement and meaning of apolipoprotein AI and apolipoprotein B plasma levels. **Journal of Internal Medicine**, v. 259, n. 5, p. 437-446, May 2006. ISSN 0954-6820. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237018900002 >.

MARCUCCI, R. et al. PAI-1 and homocysteine, but not lipoprotein (a) and thrombophilic polymorphisms, are independently associated with the occurrence of major adverse cardiac events after successful coronary stenting. **Heart**, v. 92, n. 3, p. 377-381, Mar 2006. ISSN 1355-6037. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000235560600019 >.

MATOS-SOUZA, J. R. et al. Physical activity is associated with improved subclinical atherosclerosis in spinal cord injury subjects independent of variation in traditional risk factors. **International Journal of Cardiology**, v. 167, n. 2, p. 592-593, Jul 2013. ISSN 0167-5273. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000320768800060 >.

MAY, M. et al. Associations of von Willebrand factor, fibrin D-dimer and tissue plasminogen activator with incident coronary heart disease: British Women's Heart and Health cohort study. **European Journal of Cardiovascular Prevention &**

Rehabilitation, v. 14, n. 5, p. 638-645, Oct 2007. ISSN 1741-8267. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000254460400007 >.

MCCANN, C. J. et al. Investigation of a multimarker approach to the initial assessment of patients with acute chest pain. **Advances in Therapy**, v. 26, n. 5, p. 531-534, May 2009. ISSN 0741-238X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266909800005 >.

MCCORMICK, S. P. Lipoprotein (a): biology and clinical importance. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 25, n. 1, p. 69, 2004.

MCCULLY, K. S. VASCULAR PATHOLOGY OF HOMOCYSTEINEMIA - IMPLICATIONS FOR PATHOGENESIS OF ARTERIOSCLEROSIS. **American Journal of Pathology**, v. 56, n. 1, p. 111-&, 1969 1969. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1969D724400007 >.

MCMANUS, L. M.; PINCKARD, R. N. PAF, a putative mediator of oral inflammation. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 11, n. 2, p. 240-258, May 2000. ISSN 1045-4411. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000087783900007 >.

MEH, D. A. et al. The amino acid sequence in fibrin responsible for high affinity thrombin binding. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 85, n. 3, p. 470-474, Mar 2001. ISSN 0340-6245. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000167672000019 >.

MENDIS, S.; PUSKA, P.; NORRVING, B. **Global atlas on cardiovascular disease prevention and control**. World Health Organization, 2011. ISBN 9241564377.

MENSAH, G. A.; BROWN, D. W. An overview of cardiovascular disease burden in the United States. **Health Affairs**, v. 26, n. 1, p. 38-48, Jan-Feb 2007. ISSN 0278-2715. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000244223200005 >.

MEUWESE, M. C. et al. Serum Myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals - The EPIC-Norfolk prospective population study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 50, n. 2, p. 159-165, Jul 2007. ISSN 0735-1097. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000247887200008 >.

MILIONIS, H. J.; WINDER, A. F.; MIKHAILIDIS, D. P. Lipoprotein (a) and stroke. **Journal of Clinical Pathology**, v. 53, n. 7, p. 487-496, Jul 2000. ISSN 0021-9746. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000087979800001 >.

MINAMINO, N. et al. THE PRESENCE OF BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE OF 12,000 DALTONS IN PORCINE HEART. **Biochemical and Biophysical Research**

Communications, v. 155, n. 2, p. 740-746, Sep 1988. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1988Q050400030 >.

MISONO, K. S. et al. RAT ATRIAL NATRIURETIC FACTOR - ISOLATION, STRUCTURE AND BIOLOGICAL-ACTIVITIES OF 4 MAJOR PEPTIDES. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 123, n. 2, p. 444-451, 1984. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1984TK76900006 >.

MOCATTA, T. J. et al. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 49, n. 20, p. 1993-2000, May 2007. ISSN 0735-1097. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000246734100001 >.

MORROW, D. A. et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 552-574, Apr 2007. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000245640400004 >.

_____. Prognostic value of serial B-type natriuretic peptide testing during follow-up of patients with unstable coronary artery disease. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 294, n. 22, p. 2866-2871, Dec 14 2005. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000233826700027 >.

MORTENSEN, R. F. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. **Immunologic Research**, v. 24, n. 2, p. 163-176, 2001. ISSN 0257-277X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000171197900006 >.

MOTA, A. P. L. et al. Lipoproteína (a) em pacientes portadores de doença arterial obstrutiva periférica e/ou diabetes mellitus tipo 2. **J Bras Patol Med Lab**, v. 44, n. 2, p. 89-95, 2008.

MOTT, J. D.; WERB, Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 16, n. 5, p. 558-564, Oct 2004. ISSN 0955-0674. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000224201900014 >.

MOTTA, M. et al. Serum lipoprotein(a) changes in acute myocardial infarction. **Panminerva Medica**, v. 43, n. 2, p. 77-80, Jun 2001. ISSN 0031-0808. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000170370200002 >.

NAGASE, M. et al. Tissue distribution and localization of natriuretic peptide receptor subtypes in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 15, n. 11, p. 1235-1243, Nov 1997. ISSN 0263-6352. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997YD51700007 >.

NAKAKUKI, T. et al. Rho/Rho-kinase pathway contributes to C-reactive protein-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 25, n. 10, p. 2088-2093, Oct 2005. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232231500012

NDREPEPA, G. et al. Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 38, n. 2, p. 90-96, Feb 2008. ISSN 0014-2972. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000252587400003 >.

NICHOLLS, M.; FRAMPTON, C.; YANDLE, T. BNP: not just for heart failure. **Heart**, v. 94, n. 1, p. 6-7, 2008. ISSN 1468-201X.

NYGARD, O. et al. TOTAL PLASMA HOMOCYSTEINE AND CARDIOVASCULAR RISK PROFILE - THE HORDALAND HOMOCYSTEINE STUDY. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 274, n. 19, p. 1526-1533, Nov 1995. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995TD57100029 >.

OCHRIETOR, J. D. et al. Role of STAT3 and C/EBP in cytokine-dependent expression of the mouse serum amyloid P-component (SAP) and C-reactive protein (CRP) genes. **Cytokine**, v. 12, n. 7, p. 888-899, Jul 2000. ISSN 1043-4666. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000088220900007 >.

OHAYON, J. et al. Necrotic core thickness and positive arterial remodeling index: emergent biomechanical factors for evaluating the risk of plaque rupture. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 295, n. 2, p. H717-H727, Aug 2008. ISSN 0363-6135. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000258254200031 >.

PACKARD, C. J. et al. Influence of pravastatin and plasma lipids on clinical events in the West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). **Circulation**, v. 97, n. 15, p. 1440-1445, Apr 1998. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000073113700005 >.

PASCERI, V.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. H. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. **Circulation**, v. 102, n. 18, p. 2165-2168, Oct 2000. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000090109400010

PATIBANDLA, P. K. et al. Fibrinogen Induces Alterations of Endothelial Cell Tight Junction Proteins. **Journal of Cellular Physiology**, v. 221, n. 1, p. 195-203, Oct 2009. ISSN 0021-9541. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000269573400024 >.

PATSCH, W.; GOTTO, A. M. Apolipoproteins: Pathophysiology and clinical implications. **Plasma Lipoproteins, Pt C**, v. 263, p. 3-32, 1996. ISSN 0076-6879. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996BF07J00001 >.

PERSSON, M. et al. Lp-PLA(2) activity and mass are associated with increased incidence of ischemic stroke - A population-based cohort study from Malmo, Sweden. **Atherosclerosis**, v. 200, n. 1, p. 191-198, Sep 2008. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000259549800025 >.

_____. Elevated Lp-PLA(2) levels add prognostic information to the metabolic syndrome on incidence of cardiovascular events among middle-aged nondiabetic subjects. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 27, n. 6, p. 1411-1416, Jun 2007. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000246714600027 >.

_____. The epidemiology of Lp-PLA(2): Distribution and correlation with cardiovascular risk factors in a population-based cohort. **Atherosclerosis**, v. 190, n. 2, p. 388-396, Feb 2007. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000244173000020 >.

PFEIFER, A. et al. Defective smooth muscle regulation in cGMP kinase I-deficient mice. **Embo Journal**, v. 17, n. 11, p. 3045-3051, Jun 1998. ISSN 0261-4189. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000074159600008 >.

PODREZ, E. A. et al. Myeloperoxidase-generated reactive nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro. **Journal of Clinical Investigation**, v. 103, n. 11, p. 1547-1560, Jun 1999. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000083468100010 >.

PRADHAN, A. D. et al. Tissue plasminogen activator antigen and D-dimer as markers for atherothrombotic risk among healthy postmenopausal women. **Circulation**, v. 110, n. 3, p. 292-300, Jul 20 2004. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000222775000010 >.

QUINN, M. T.; PARTHASARATHY, S.; STEINBERG, D. LYOPHOSPHATIDYLCHOLINE - A CHEMOTACTIC FACTOR FOR HUMAN-MONOCYTES AND ITS POTENTIAL ROLE IN ATHEROGENESIS. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 85, n. 8, p. 2805-2809, Apr 1988. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1988N023400082 >.

RADER, D. J.; HOEG, J. M.; BREWER, H. B. QUANTITATION OF PLASMA APOLIPOPROTEINS IN THE PRIMARY AND SECONDARY PREVENTION OF CORONARY-ARTERY DISEASE. **Annals of Internal Medicine**, v. 120, n. 12, p.

1012-1025, Jun 1994. ISSN 0003-4819. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1994NQ96400008 >.

RAMADAN, M. A. M. et al. The three-dimensional structure of calcium-depleted human C-reactive protein from perfectly twinned crystals. **Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography**, v. 58, p. 992-1001, Jun 2002. ISSN 0907-4449. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000176271200009 >.

RAND, M. L. et al. Apolipoprotein(a) enhances platelet responses to the thrombin receptor-activating peptide SFLLRN. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 18, n. 9, p. 1393-1399, Sep 1998. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000075918800006 >.

RAVNSBORG, T.; HOUEN, G.; HOJRUP, P. The glycosylation of myeloperoxidase. **Biochimica Et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics**, v. 1804, n. 10, p. 2046-2053, Oct 2010. ISSN 1570-9639. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000281920300011 >.

RIDKER, P. M. et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 20, p. 1557-1565, Nov 2002. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000179187800003 >.

_____. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. **Circulation**, v. 101, n. 15, p. 1767-1772, Apr 2000. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000086812900004 >.

ROBINSON, J. G.; WANG, S. F.; JACOBSON, T. A. Meta-Analysis of Comparison of Effectiveness of Lowering Apolipoprotein B Versus Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Nonhigh-Density Lipoprotein Cholesterol for Cardiovascular Risk Reduction in Randomized Trials. **American Journal of Cardiology**, v. 110, n. 10, p. 1468-1476, Nov 2012. ISSN 0002-9149. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000311523900013 >.

ROSENGREN, A. et al. LIPOPROTEIN-(A) AND CORONARY HEART-DISEASE - A PROSPECTIVE CASE-CONTROL STUDY IN A GENERAL-POPULATION SAMPLE OF MIDDLE-AGED MEN. **British Medical Journal**, v. 301, n. 6763, p. 1248-1251, Dec 1990. ISSN 0959-8138. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1990EM28400020 >.

SAGASTAGOITIA, J. et al. Lipoprotein (a), D-Dimer and apolipoprotein A1 as markers of presence and severity of coronary disease. **Medicina Clinica**, v. 132, n. 18, p. 689-694, May 2009. ISSN 0025-7753. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266482500001 >.

SCHAEFER, E. J. et al. LIPOPROTEIN(A) LEVELS AND RISK OF CORONARY HEART-DISEASE IN MEN - THE LIPID RESEARCH CLINICS CORONARY PRIMARY PREVENTION TRIAL. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 271, n. 13, p. 999-1003, Apr 1994. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1994ND94900029 >.

SCHALOSKE, R. H.; DENNIS, E. A. The phospholipase A₂ superfamily and its group numbering system. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1761, n. 11, p. 1246-1259, 2006. ISSN 1388-1981.

SCHLOSSMANN, J.; FEIL, R.; HOFMANN, F. Insights into cGMP signalling derived from cGMP kinase knockout mice. **Frontiers in Bioscience**, v. 10, p. 1279-1289, May 2005. ISSN 1093-9946. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232319800025 >

SCHULZ, S. et al. The primary structure of a plasma membrane guanylate cyclase demonstrates diversity within this new receptor family. **Cell**, v. 58, n. 6, p. 1155-1162, 1989. ISSN 0092-8674.

SEN, U. et al. Fibrinogen-induced endothelin-1 production from endothelial cells. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 296, n. 4, p. C840-C847, Apr 2009. ISSN 0363-6143. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000264753200020 >.

SHASTRY, S. et al. Homocysteine induces mesangial cell apoptosis via activation of p38-mitogen-activated protein kinase. **Kidney International**, v. 71, n. 4, p. 304-311, Feb 2007. ISSN 0085-2538. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000244082200012 >

SHI, Y. et al. Role of lipoprotein-associated phospholipase A(2) in leukocyte activation and inflammatory responses. **Atherosclerosis**, v. 191, n. 1, p. 54-62, Mar 2007. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000244944100007 >.

SHRIVE, A. K. et al. Three dimensional structure of human C-reactive protein. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 3, n. 4, p. 346-354, 1996.

SINGH, U.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. C-reactive protein decreases tissue plasminogen activator activity in human aortic endothelial cells - Evidence that C-reactive protein is a procoagulant. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 25, n. 10, p. 2216-2221, Oct 2005. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232231500031 >.

SMITH, A. et al. Which hemostatic markers add to the predictive value of conventional risk factors for coronary heart disease and ischemic stroke? The

Caerphilly Study. **Circulation**, v. 112, n. 20, p. 3080-3087, Nov 15 2005. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000233255100010 >.

SPOSITO, A. C. et al. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, p. 2-19, 2007. ISSN 0066-782X.

STAFFORINI, D. M. et al. HUMAN-PLASMA PLATELET-ACTIVATING-FACTOR ACETYLHYDROLASE - ASSOCIATION WITH LIPOPROTEIN PARTICLES AND ROLE IN THE DEGRADATION OF PLATELET-ACTIVATING-FACTOR. **Journal of Biological Chemistry**, v. 262, n. 9, p. 4215-4222, Mar 1987. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1987G578600048 >.

STEIN, J. H.; ROSENSON, R. S. Lipoprotein Lp(a) excess and coronary heart disease. **Archives of Internal Medicine**, v. 157, n. 11, p. 1170-1176, Jun 1997. ISSN 0003-9926. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XC81200003 >.

STORCH, K. J. et al. 1-C-13-METHYL-H-2(3) METHIONINE KINETICS IN HUMANS - METHIONINE CONSERVATION AND CYSTINE SPARING. **American Journal of Physiology**, v. 258, n. 5, p. E790-E798, May 1990. ISSN 0002-9513. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1990DE09700030 >.

TEW, D. G. et al. Purification, properties, sequencing, and cloning of a lipoprotein-associated, serine-dependent phospholipase involved in the oxidative modification of low-density lipoproteins. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 16, n. 4, p. 591-599, Apr 1996. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UF80200013 >.

THOMPSON, A. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. **Lancet**, v. 375, n. 9725, p. 1536-1544, May 2010. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000277655100026 >.

TILLET, W. S.; FRANCIS, T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. **The Journal of experimental medicine**, v. 52, n. 4, p. 561-571, 1930. ISSN 0022-1007.

TORZEWSKI, M. et al. C-reactive protein in the arterial intima - Role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 20, n. 9, p. 2094-2099, Sep 2000. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000089333600014 >.

TSAKADZE, N. L.; ZHAO, Z. D.; D'SOUZA, S. E. Interactions of intercellular adhesion molecule-1 with fibrinogen. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 12, n. 3, p. 101-108, Apr 2002. ISSN 1050-1738. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000175505900002 >.

TSIMIKAS, S. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, ferritin levels, metabolic syndrome, and 10-year cardiovascular and non-cardiovascular mortality: results from the Bruneck study. **European Heart Journal**, v. 30, n. 1, p. 107-115, Jan 2009. ISSN 0195-668X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000262152700017

UEMURA, S. et al. Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity - Role of oxidative stress. **Circulation Research**, v. 88, n. 12, p. 1291-1298, Jun 2001. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000169541600013

UMEMOTO, S. et al. Eosinophil counts and plasma fibrinogen in patients with vasospastic angina pectoris. **American Journal of Cardiology**, v. 85, n. 6, p. 715-719, Mar 15 2000. ISSN 0002-9149. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000085838000008 >.

VAN ANTWERPEN, P. et al. Glycosylation Pattern of Mature Dimeric Leukocyte and Recombinant Monomeric Myeloperoxidase GLYCOSYLATION IS REQUIRED FOR OPTIMAL ENZYMATIC ACTIVITY. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 21, p. 16351-16359, May 2010. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000277715900071 >.

VAN DER MEER, I. M. et al. C-reactive protein predicts progression of atherosclerosis measured at various sites in the arterial tree - The Rotterdam study. **Stroke**, v. 33, n. 12, p. 2750-2755, Dec 2002. ISSN 0039-2499. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000179827100011 >.

VAN TITS, L. et al. C-reactive protein and annexin A5 bind to distinct sites of negatively charged phospholipids present in oxidized low-density lipoprotein. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 25, n. 4, p. 717-722, 2005. ISSN 1079-5642.

VENUGOPAL, S. K.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Macrophage conditioned medium induces the expression of C-reactive protein in human aortic endothelial cells - Potential for paracrine/autocrine effects. **American Journal of Pathology**, v. 166, n. 4, p. 1265-1271, Apr 2005. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227919500031 >.

VENUGOPAL, S. K. et al. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. **Circulation**, v. 106, n.

12, p. 1439-1441, Sep 2002. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000178122500005 >.

VOLANAKIS, J. E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. **Molecular Immunology**, v. 38, n. 2-3, p. 189-197, Aug 2001. ISSN 0161-5890. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000170875300142 >.

WADAJKAR, A. S. et al. Deep vein thrombosis: Current status and nanotechnology advances. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 5, p. 504-513, Sep-Oct 2013. ISSN 0734-9750. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000322058900004 >.

WALLDIUS, G.; AASTVEIT, A.; JUNGNER, I. Hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia—greatest cardiac risk in subjects with high apoB/apoA-I levels. International Congress Series, 2004, Elsevier. p.203-206.

WALLDIUS, G.; AASTVEIT, A. H.; JUNGNER, I. Stroke mortality and the apoB/apoA-I ratio: results of the AMORIS prospective study. **Journal of Internal Medicine**, v. 259, n. 3, p. 259-266, Mar 2006. ISSN 0954-6820. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000235258900003 >.

WALLDIUS, G. et al. The apoB/apoA-1 ratio is better than the cholesterol ratios to estimate the balance between plasma proatherogenic and antiatherogenic lipoproteins and to predict coronary risk. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 42, n. 12, p. 1355-1363, 2004. ISSN 1434-6621. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000225906600002 >.

_____. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. **Lancet**, v. 358, n. 9298, p. 2026-2033, Dec 2001. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000172722800011 >.

WANG, J. J. et al. Elevated concentrations of oxidized lipoprotein(a) are associated with the presence and severity of acute coronary syndromes. **Clinica Chimica Acta**, v. 408, n. 1-2, p. 79-82, Oct 2009. ISSN 0009-8981. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000270486400016 >.

WANG, T. J. et al. Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. **New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 25, p. 2631-2639, Dec 21 2006. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000242956200004 >.

WANG, W. X. et al. Quantification of Circulating D-dimer by Peptide Immunoaffinity Enrichment and Tandem Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 15, p.

6891-6898, Aug 2012. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000307159200088 >.

WANG, Y. et al. Myeloperoxidase inactivates TIMP-1 by oxidizing its N-terminal cysteine residue - An oxidative mechanism for regulating proteolysis during inflammation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 44, p. 31826-31834, Nov 2007. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000250480300002 >.

WATTANAKIT, K. et al. Risk factors for cardiovascular event recurrence in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. **American Heart Journal**, v. 149, n. 4, p. 606-612, Apr 2005. ISSN 0002-8703. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000228717600007 >.

WHITE, A. L. et al. INTRACELLULAR PROCESSING OF APO(A) IN PRIMARY BABOON HEPATOCYTES. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 67-8, p. 123-133, 1994. ISSN 0009-3084. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1994NB02900014 >.

WILCKEN, D. E. L.; GUPTA, V. J. CYSTEINE-HOMOCYSTEINE MIXED DISULFIDE - DIFFERING PLASMA-CONCENTRATIONS IN NORMAL MEN AND WOMEN. **Clinical Science**, v. 57, n. 2, p. 211-215, 1979 1979. ISSN 0143-5221. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1979HG00800011 >.

WILENSKY, R. L. et al. Inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A(2) reduces complex coronary atherosclerotic plaque development. **Nature Medicine**, v. 14, n. 10, p. 1059-1066, Oct 2008. ISSN 1078-8956. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000259892300036 >.

WILHELMSSEN, L. et al. FIBRINOGEN AS A RISK FACTOR FOR STROKE AND MYOCARDIAL-INFARCTION. **New England Journal of Medicine**, v. 311, n. 8, p. 501-505, 1984. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1984TE98200004 >.

WINKLER, K. et al. Fluvastatin slow-release lowers platelet-activating factor acetyl hydrolase activity: A placebo-controlled trial in patients with type 2 diabetes. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 3, p. 1153-1159, Mar 2004. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000220030700020 >.

WINTERBOURN, C. C. et al. Modeling the reactions of superoxide and myeloperoxidase in the neutrophil phagosome - Implications for microbial killing. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 52, p. 39860-39869, Dec 2006. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000243033900013 >.

WITTE, S. THE INFLUENCE OF THE FIBRINOLYTIC SYSTEM ON THE AFFINITY OF FIBRINOGEN FOR THE ENDOTHELIAL-PLASMA INTERFACE. **Thrombosis**

Research, v. 52, n. 2, p. 111-117, Oct 15 1988. ISSN 0049-3848. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1988Q778000004 >.

WONG, N. D. et al. Myeloperoxidase, Subclinical Atherosclerosis, and Cardiovascular Disease Events. **Jacc-Cardiovascular Imaging**, v. 2, n. 9, p. 1093-1099, Sep 2009. ISSN 1936-878X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000287654900009 >.

WOO, P.; KORENBERG, J. R.; WHITEHEAD, A. S. CHARACTERIZATION OF GENOMIC AND COMPLEMENTARY-DNA SEQUENCE OF HUMAN C-REACTIVE PROTEIN, AND COMPARISON WITH THE COMPLEMENTARY-DNA SEQUENCE OF SERUM AMYLOID-P COMPONENT. **Journal of Biological Chemistry**, v. 260, n. 24, p. 3384-3388, 1985. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1985ATC5900074 >.

XIMENES, V. F. et al. Serotonin as a physiological substrate for myeloperoxidase and its superoxide-dependent oxidation to cytotoxic tryptamine-4,5-dione. **Biochemical Journal**, v. 425, p. 285-293, Jan 2010. ISSN 0264-6021. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000273585000028 >.

YASOJIMA, K. et al. Human neurons generate C-reactive protein and amyloid P: upregulation in Alzheimer's disease. **Brain Research**, v. 887, n. 1, p. 80-89, Dec 2000. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000166116800010 >.

YUSUF, S.; HAWKEN, S.; OUNPUU, S. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study (vol 364, pg 937m 2004). **Lancet**, v. 364, n. 9450, p. 2020-2020, Dec 2004. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000225495700024 >.

ZALEWSKI, A.; MACPHEE, C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A(2) in atherosclerosis - Biology, epidemiology, and possible therapeutic target. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 25, n. 5, p. 923-931, May 2005. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000228806900366 >.

ZAMOCKY, M. et al. The peroxidase-cyclooxygenase superfamily: reconstructed evolution of critical enzymes of the innate immune system. **Proteins-Structure Function and Bioinformatics**, v. 72, n. 2, p. 589-605, Aug 2008. ISSN 0887-3585. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000257156500005 >.

ZELLER, M. et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with non-ST-elevation myocardial infarction. **Cardiology**, v. 102, n. 1, p. 37-40, 2004 2004. ISSN 0008-6312. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000220854300010 >.

ZENG, J.; FENNA, R. E. X-RAY CRYSTAL-STRUCTURE OF CANINE MYELOPEROXIDASE AT 3 ANGSTROM RESOLUTION. **Journal of Molecular Biology**, v. 226, n. 1, p. 185-207, Jul 1992. ISSN 0022-2836. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1992JC80900017 >.

ZHANG, C. X. et al. Endothelial dysfunction is induced by proinflammatory oxidant hypochlorous acid. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 281, n. 4, p. H1469-H1475, Oct 2001. ISSN 0363-6135. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000171227400002 >.

ZHANG, D. H. et al. Homocysteine activates vascular smooth muscle cells by DNA demethylation of platelet-derived growth factor in endothelial cells. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 53, n. 4, p. 487-496, Oct 2012. ISSN 0022-2828. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000308679700004 >.

ZHANG, D. X. et al. STAT3 participates in transcriptional activation of the C-reactive protein gene by interleukin-6. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 16, p. 9503-9509, Apr 1996. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UG04400053 >.

ZHANG, Y. X. et al. Coronary C-reactive protein distribution: its relation to development of atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 145, n. 2, p. 375-379, Aug 1999. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000082324000019 >.

ZHAO, S. P.; XU, D. Y. Oxidized lipoprotein(a) increases the expression of platelet-derived growth factor-B in human umbilical vein endothelial cells. **Clinica Chimica Acta**, v. 296, n. 1-2, p. 121-133, Jun 2000. ISSN 0009-8981. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000087469500010 >.

ZHONG, J. P. et al. Significance of CAVI, hs-CRP and Homocysteine in subclinical arteriosclerosis among a healthy population in China. **Clinical and Investigative Medicine**, v. 36, n. 2, p. E81-E86, 2013. ISSN 0147-958X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000318765200004 >.

ZOU, M. H.; SHI, C. M.; COHEN, R. A. Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. **Journal of Clinical Investigation**, v. 109, n. 6, p. 817-826, Mar 2002. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000174490600017 >.

ZWAKA, T. P.; HOMBACH, V.; TORZEWSKI, J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages - Implications for atherosclerosis. **Circulation**, v. 103, n. 9, p. 1194-1197, Mar 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000167562200005 >.